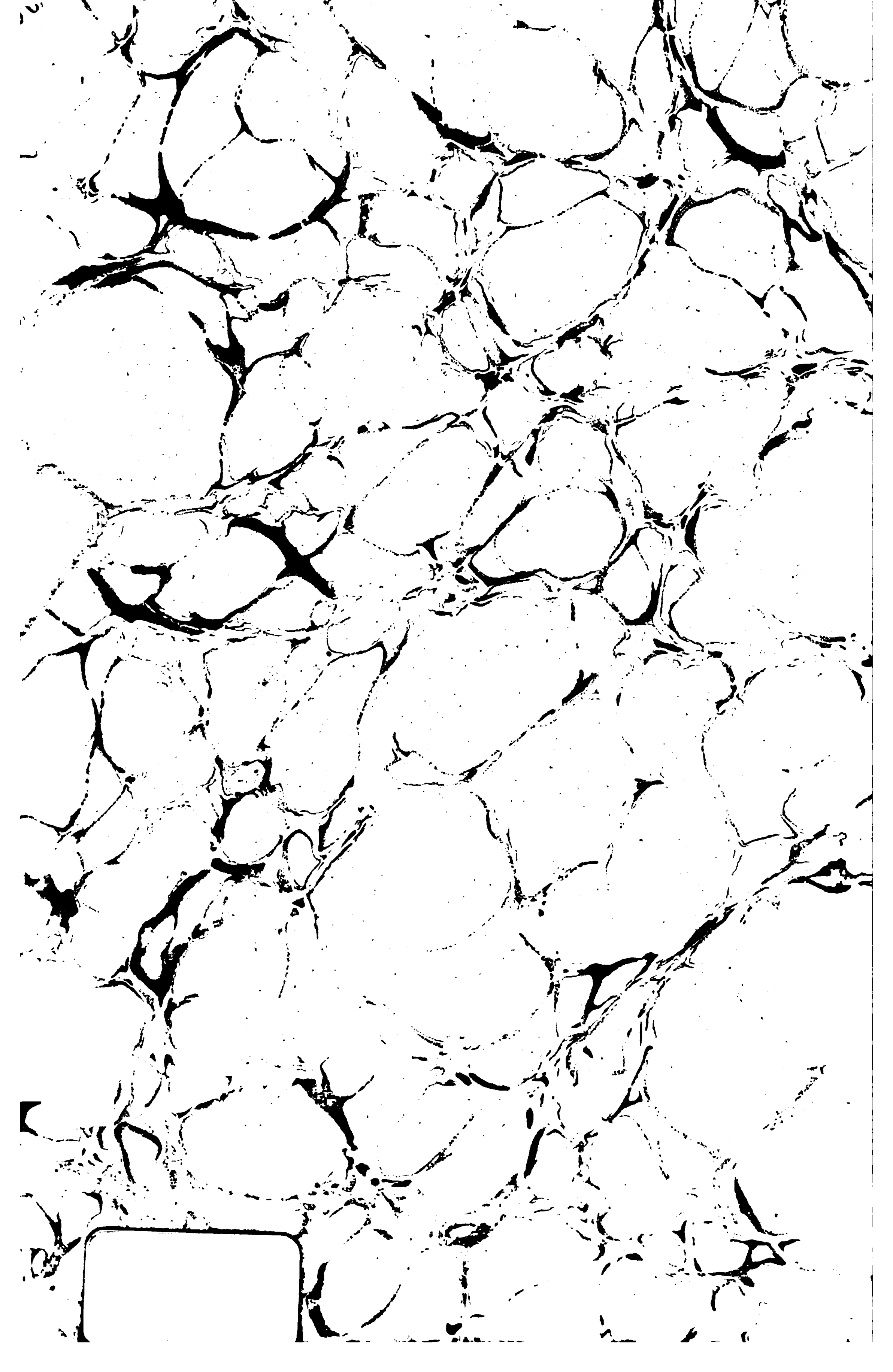
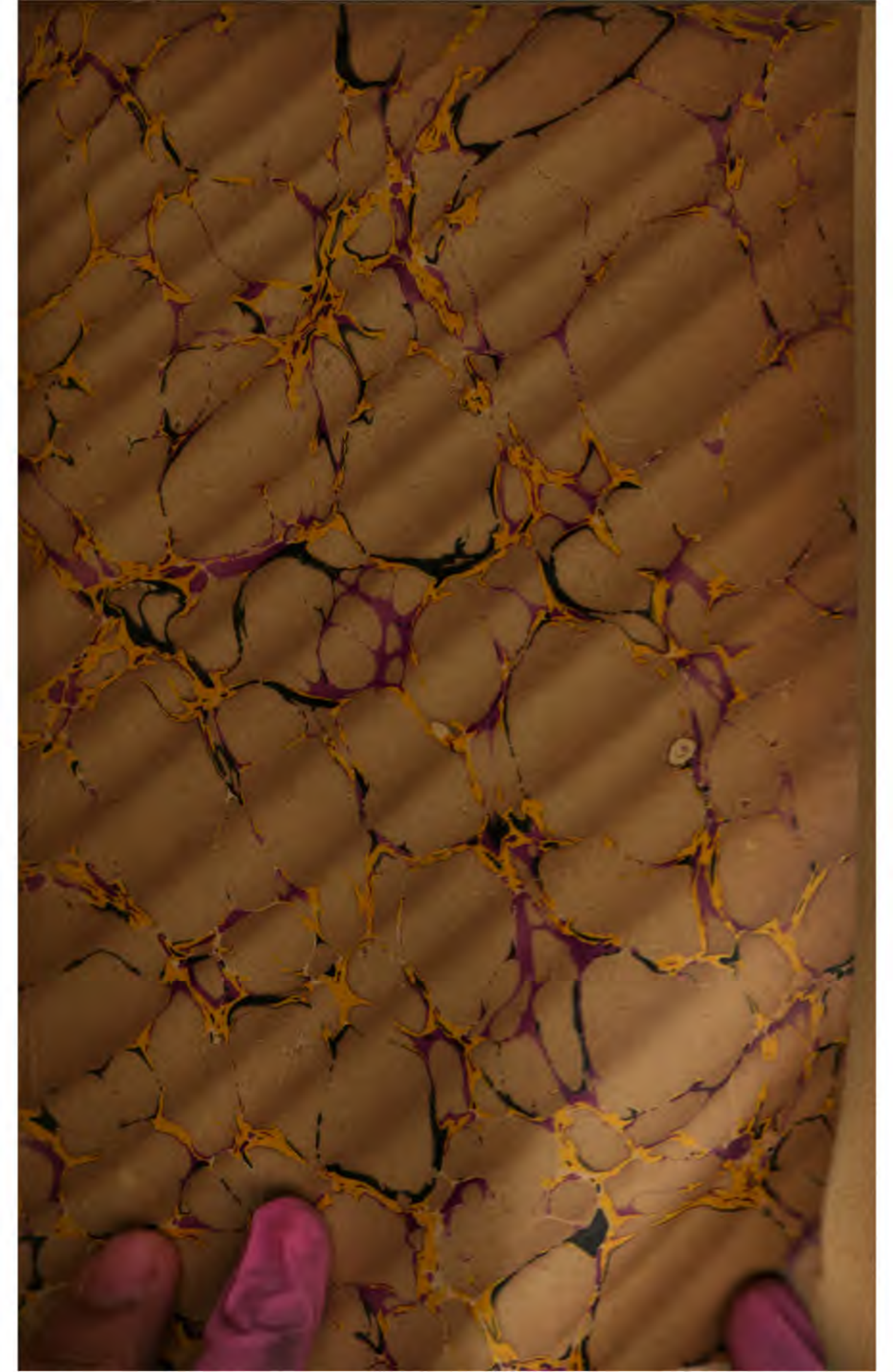






O'C.

ARCHIVES

DE

PARASITOLOGIE

LILLE — IMPRIMERIE LE BIGOT FRÈRES

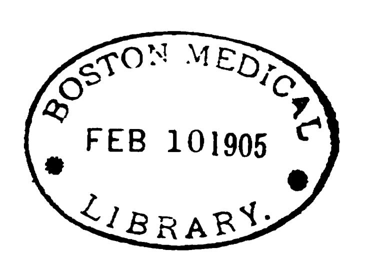
ARCHIVES
DE
PARASITOLOGIE

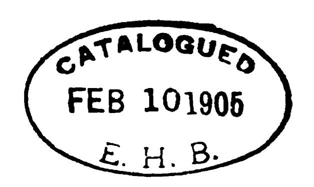
PUBLIÉES PAR

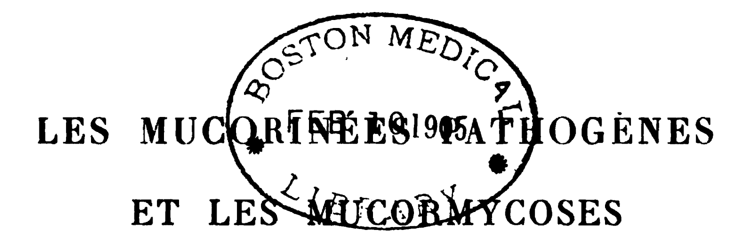
RAPHAËL BLANCHARD
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

TOME SEPTIÈME

PARIS
LIBRAIRIE SCIENTIFIQUE ET LITTÉRAIRE
F. R. DE RUDEVAL, ÉDITEUR
4, RUE ANTOINE DUBOIS (VI°)
—
1903


BOSTON MEDICAL
FEB 10 1905
LIBRARY.


CATALOGUED
FEB 10 1905
E. H. B.



LES MUCORINÉES PATHOGÈNES ET LES MUCORMYCOSES

CHEZ LES ANIMAUX ET CHEZ L'HOMME

PAR

le Dr G.-J. BARTHELAT

Professeur-suppléant à l'École de médecine d'Angers.

INTRODUCTION

> « Il suffit d'envisager d'où vient le progrès pour se convaincre que, réduite à la seule clinique, la médecine retomberait fatalement dans l'empirisme, dont les savants ont eu tant de peine à la tirer. Les sciences que l'on désigne sous le nom dédaigneux de sciences accessoires sont en réalité la base solide sur laquelle repose l'art médical. C'est à elles, et à elles seules, que la médecine doit d'être entrée dans la voie du progrès et d'avoir abandonné les systèmes pour adopter résolument la méthode expérimentale, qui seule peut la conduire à la conquête de la vérité. »
>
> R. Blanchard, *Leçon d'ouverture du cours d'histoire naturelle médicale à la Faculté de médecine de Paris*, 7 mars 1898.

I. — La Parasitologie, prise dans son acception la plus large, occupe actuellement en médecine une place dont l'importance croît chaque jour. Ce constant progrès est dû en grande partie aux découvertes réalisées, depuis un demi-siècle à peine, dans le domaine de la Mycologie parasitaire.

Le rôle des végétaux parasites, même en laissant de côté les Bactéries, est en effet considérable et nombreux sont les travaux qui, sous l'influence de la doctrine pastorienne, ont été publiés dans ces dernières années, soit pour en définir le pouvoir pathogène, soit plus simplement pour en déterminer les caractères botaniques ou biologiques et en fixer la place dans la classification.

Tous ces parasites, non bactériens, appartiennent à la classe des Champignons, et les maladies qu'ils provoquent sont connues sous le nom générique de *mycoses*, créé par Virchow en 1856. Les uns sont ordinairement de simples saprophytes ou des commensaux inoffensifs, et leur parasitisme peut être considéré comme une phase accidentelle de leur existence; les autres, au contraire, sont de véritables agents pathogènes. Il est vraisemblable que tous ont vécu autrefois à l'état saprophytique et que le parasitisme absolu de certaines espèces est dû à une adaptation secondaire.

Cette proposition, émise sur l'origine possible des mycoses, n'est pas une simple hypothèse, car elle est en partie corroborée par des faits : le parasite de l'aspergillose et probablement celui de l'actinomycose se rencontrent à l'état purement saprophytique. La localisation des lésions, propres à ces deux maladies, indique suffisamment comment l'Homme et les animaux peuvent les contracter par contagion directe venant du milieu naturel sur lequel vivent ces Champignons.

Sabouraud et Bodin n'ont-ils pas déjà signalé la possibilité de cette origine pour quelques dermatophytes? Parmi les théories parasitaires du cancer, n'en est-il pas une qui attribue à un Champignon (Blastomycète ou autre) l'apparition du néoplasme? Certaine communication concernant l'existence sur des arbres du parasite incriminé n'est-elle pas encore dans toutes les mémoires? Nous sommes persuadé que nous effleurons là un des problèmes les plus intéressants et non des moins séduisants de la pathologie générale; il n'est pas téméraire de concevoir le moment, éloigné sans doute, où l'expérimentation en fournira la solution et les recherches entreprises au moyen des Moisissures marquent la première tentative dirigée dans cette voie. Il était nécessaire, au début de ce travail, d'en montrer toute la portée.

II.— D'après leur siège, les Champignons parasites étaient autrefois séparés en deux groupes : celui des *épiphytes*, *ectophytes* ou *dermatophytes*, qui croissent à la surface de la peau et des cavités naturelles ou pénètrent plus ou moins dans la profondeur des téguments (*Trichophyton*, *Microsporum*, etc.) et celui des *entophytes* qui se développent à l'intérieur de l'organisme (*Discomyces boris*, *Saccharomyces* divers, etc.). Malheureusement chacun de ces termes n'a qu'une valeur relative, car telle espèce, parasite habituel de la peau

ou des muqueuses, peut, à un moment donné, envahir les organes internes et provoquer une affection généralisée : d'abord *épiphyte* elle devient finalement *entophyte* (l'*Oidium albicans*, entre autres, offre cette particularité).

On a proposé également de les ranger, d'après le même principe, c'est-à-dire en tenant compte des lésions et des maladies qu'ils déterminent, en Champignons des affections cutanées ou dermatomycoses (parasites du favus, parasite des trichophyties, etc.) et en Champignons susceptibles de causer des mycoses internes (*Oospora*, Levûres pathogènes, *Aspergillus*, Mucorinées pathogènes, etc.). C'est là encore une méthode artificielle, mais elle peut être avantageuse au point de vue clinique.

Enfin, certains auteurs ont préféré classer ces divers parasites d'après leurs affinités botaniques. Tous ceux dont les caractères sont parfaitement établis, entrent dans deux grands ordres : les OOMYCÈTES qui se distinguent de tous les autres Champignons par la propriété de former des œufs, et les ASCOMYCÈTES dont les spores naissent à l'intérieur de cellules mères appelées asques ou thèques. Les trop nombreuses espèces auxquelles il est impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, d'assigner une place rationnelle et définitive, ont constitué un groupe provisoire, celui des HYPHOMYCÈTES ou *Fungi imperfecti*, qui prouve la faiblesse de cette dernière classification.

Les premiers végétaux, reconnus comme parasites, appartenaient au groupe des *Moisissures* qui, dans la plupart des cas, sont visibles à l'œil nu. Ce groupe, regardé longtemps comme homogène, mais dont la dissociation se poursuit tous les jours, comprenait l'ensemble des Champignons filamenteux se développant habituellement sur les matières vivantes ou inanimées. Aujourd'hui, ces Champignons sont répartis entre deux familles principales : les MUCORINÉES qui appartiennent à l'ordre des OOMYCÈTES et les MUCÉDINÉES proprement dites, famille hétérogène du groupe des HYPHOMYCÈTES. Quelques types de cette dernière famille, déjà mieux connus, ont pu prendre place parmi les ASCOMYCÈTES.

III.— L'histoire des mycoses est par suite intimement liée à celle des Moisissures parasites avec laquelle elle s'est confondue pendant longtemps ; elle remonte à un siècle à peine. A l'exception de deux cas, l'un rapporté par Degner, l'autre par P. S. Horn en 1739, il faut

arriver en effet à 1815 pour trouver une observation relative à une Moisissure qui s'était développée dans le poumon d'un Geai : elle est due à A. C. Mayer.

A partir de cette communication, des cas analogues furent signalés d'abord chez les animaux, puis chez l'Homme : en 1816, par Jäger dans les cavités aériennes d'un Cygne ; en 1826, par Heusinger sur la face interne des sacs aériens d'une Cigogne ; en 1827, par Theile dans les poumons d'un Corbeau ; en 1833, par Owen dans les cavernes pulmonaires d'un Flamant ; en 1841, par Deloncbamps dans les sacs aériens d'un Canard eider ; la même année par Rousseau et Serrurier sur une Perruche, un Pigeon. une Poule et dans les poumons d'une Biche ; en 1842, par Müller et Retzius dans les bronches et les sacs aériens d'un Faucon ; la même année par Reinhardt sur une Oie, un Pingouin et un jeune Cormoran ; encore la même année par Bennett dans les crachats, les cavernes et les masses tuberculeuses d'un phtisique (c'est le premier cas d'affection mycosique qui ait été observé chez l'Homme) ; toujours en 1842, par Rayer, dans la plèvre d'un phtisique atteint de pneumothorax ; en 1844, par Mayer dans le pus d'une otorrhée ; en 1845, par Remak dans les crachats de pneumoniques ; en 1847, par Baum, Litzmann et Eichstedt dans une caverne pulmonaire ; en 1848, par Spring dans l'un des sacs aériens d'un Pluvier ; en 1853, par Robin dans les sacs aériens d'un Faisan ; la même année, par Gaidner dans la plèvre d'un phtisique ; en 1855, Pacini relate un cas d'otomycose et Küchenmeister rapporte un cas observé dans un cancer pulmonaire.

Toutes ces observations n'ont qu'un intérêt purement historique, car les renseignements qu'elles fournissent, sur la nature du parasite incriminé et sur la description des lésions sont par trop insuffisants. Nous avons tenu cependant à les rappeler afin de montrer combien peu fructueuses en résultats ont été les premières publications relatives aux Moisissures pathogènes. L'importance de ces dernières avait été si peu pressentie que Robin admettait que, sauf les dermatophytes, dont Gruby venait de révéler l'existence, tous les Champignons signalés sur les animaux vivants n'étaient que des accidents secondaires. Ils ne croissent, dit cet auteur, que dans des conditions favorables à la putréfaction des matières exsudées ou sécrétées qui recouvrent les muqueuses ou

la peau ulcérée; leur inoculation ne réussit qu'autant que leurs germes sont portés sur des tissus déjà altérés (1).

En 1853, l'apparition d'un nouvel ouvrage de Robin (2), puis en 1856, un remarquable mémoire de Virchow (3) qui rapportait plusieurs observations plus complètes de bronchomycoses et de pneumomycoses, attirèrent sur ce sujet l'attention des Médecins et des Vétérinaires. Dès lors la question se précisa et entra dans une nouvelle phase; le rôle nocif des Moisissures, aussi bien chez les animaux que chez l'homme, ne fut plus sérieusement contesté et successivement de nombreux cas, plus ou moins bien étudiés, ne tardèrent pas à venir enrichir nos connaissances en confirmant la manière de voir de l'illustre auteur de la pathologie cellulaire.

A partir de 1870, l'application, à l'étude des mycoses, des méthodes de recherches usitées en bactériologie (isolement du Champignon, essais d'inoculations aux animaux et examen anatomo-pathologique) éclaira d'un jour nouveau l'étiologie et la pathogénie de ces affections. En permettant de suivre, pas à pas et dès son début, avec les résistances que leur oppose l'organisme, l'évolution des Champignons pathogènes et les lésions qu'ils causent au sein des tissus, l'expérimentation a apporté à la pathologie générale et à la médecine comparée un ensemble de résultats du plus haut intérêt; c'est elle qui heureusement a mis en relief toute l'importance qui s'attache, en mycologie parasitaire, à la notion de l'espèce.

Le cadre restreint de cet exposé préliminaire nous interdit de passer en revue toutes les observations cliniques ou expérimentales qui suivirent la communication de Virchow. Une simple énumération serait fastidieuse et inutile. Aussi renvoyons-nous pour de plus amples détails, sur tout ce qui concerne cette dernière période, à l'excellente revue de Dubreuilh (4) et aux ouvrages spéciaux de Rénon (5), de Lucet (6) et de Saxer (7) sur l'aspergil-

(1) Ch. Robin, *Des végétaux qui croissent sur les êtres vivants*. Thèse de la Faculté des sciences, Paris, 1847.

(2) Ch. Robin. *Histoire naturelle des végétaux parasites*. Paris, 1853.

(3) R. Virchow, Beiträge zur Lehre von den beim Menschen vorkommenden pflanzlichen Parasiten. *Virchow's Archiv*, IX, p. 557, 1856.

(4) W. Dubreuilh, Des Moisissures parasitaires de l'Homme et des animaux supérieurs. *Archives de médecine expérimentale*, III, p. 428, 1891.

(5) L. Rénon, *Etude sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'Homme*. Paris, 1897.

(6) A. Lucet, *De l'Aspergillus fumigatus chez les animaux domestiques*. Paris, 1897.

(7) F. Saxer, *Pneumonomycosis aspergillina*. Iéna, 1900.

lose (1). Au cours de ce travail, d'ailleurs, nous reviendrons sur quelques points de l'histoire des mycoses expérimentales. Retenons toutefois quelques-uns des résultats acquis.

IV. — Il convient, avec le professeur R. Blanchard (2), d'établir une gradation dans la pathogénie des affections mycosiques.

Dans un premier degré le parasite se fixe dans les cavités naturelles facilement accessibles aux spores. Fréquents sont les cas d'otomycose où le Champignon se développe dans le conduit auditif externe; plus rares sont ceux qui intéressent la bouche ou la cavité naso-pharyngienne; exceptionnelles enfin sont les mycoses cutanées. Presque tous ne font que compliquer une affection préexistante qui prépare en quelque sorte le terrain sur lequel va végéter la Moisissure; on cite cependant des exceptions, car pour la kératomycose en particulier, il paraît démontré que le parasite peut être la cause directe de la maladie.

Dans un second degré, la Moisissure attaque des organes moins superficiels et se circonscrit en foyers d'une étendue variable. Les nombreuses observations de bronchomycoses, de pneumomycoses et de pseudo-tuberculoses mycosiques sont autant d'exemples de processus présentant ce caractère. Tantôt ces maladies sont consécutives à des lésions de l'appareil respiratoire, tantôt au contraire elles frappent des organismes absolument sains. L'infection peut donc être primitive et dans plusieurs cas d'aspergillose elle a été considérée comme telle par les auteurs français, tandis qu'elle a été contestée par certains auteurs étrangers.

Enfin, dans un dernier degré, la mycose se généralise et atteint les tissus profonds. Les spores introduites dans le torrent circulatoire se répandent dans tout le corps et vont germer au milieu des organes où elles peuvent provoquer des lésions mortelles. Ces cas sont, il est vrai, exceptionnels chez l'Homme puisque la littérature n'en comporte qu'une seule observation où l'agent pathogène était manifestement une Mucorinée (Paltauf). Il en est autrement pour les animaux, surtout pour les Oiseaux, chez lesquels on a signalé

(1) On trouve également une bibliographie complète de la question dans un mémoire qui a été ignoré des précédents auteurs : A. Ciaglinski. Przyczynek do nauki o grzybnicach plesniowych. *Pamietnik Towarzystwa lekarskiego Warszaw*. LXXXVI, p. 491. 1890, et LXXXVII, p. 457. 1891.

(2) R. Blanchard, Parasites végétaux, in *Traité de pathologie générale* de Bouchard, II, p. 811, Paris, 1896.

des formes aiguës avec envahissement simultané, par le mycélium, du foie, du rein, de l'intestin ou du mésentère.

En aucun cas la contagion ne semble s'établir d'individu à individu, mais elle a lieu par l'intermédiaire de l'air, des aliments ou de toute autre substance pouvant servir de véhicule aux spores virulentes. L'infection paraît même nécessiter, pour se réaliser, le concours de circonstances spéciales ou de conditions prédisposantes. C'est ainsi que les pneumomycoses sont plus fréquentes chez les Oiseaux que chez les Mammifères, parce que les Oiseaux se nourrissent plus exclusivement de graines qui sont souvent contaminées par les Moisissures. De même, telle espèce très virulente à l'égard du Lapin est complètement inoffensive pour le Chien.

Les spores seules sont nocives : elles donnent, en germant dans l'organisme, des filaments mycéliens dont l'accroissement est la cause déterminante des lésions. L'introduction directe de ces filaments, même dans le système sanguin, reste absolument sans effets, sauf le cas où il survient des phénomènes emboliques.

Les lésions produites sont de deux ordres : dans un premier stade, le parasite frappe de nécrose les éléments cellulaires avec lesquels il entre en contact ; dans un second, la réaction leucocytaire se manifeste sous l'aspect de foyers inflammatoires ou même de pseudo-tubercules lorsque l'organisme a le temps de réagir.

Les formations actinomorphes, remarquées dans l'aspergillose et autres mycoses, ont été regardées par Lichtheim comme des « productions avortées » et sont, d'après Rénon, « l'indice de la défense extrême de l'organisme et de la vitalité moins grande du Champignon. »

Aucune Moisissure n'a été vue avec des organes de reproduction quand elle végète dans les tissus compacts. L'accès de l'air étant indispensable à l'apparition de la fructification ordinaire, celle ci n'a été observée que dans les poumons.

Pendant longtemps, les auteurs ont voulu opposer l'infection mycosique expérimentale à l'infection bactérienne en se basant sur la différence d'action des deux agents pathogènes : les Bactéries agissant moins par leur présence au milieu des organes que par les toxines qu'elles sécrètent, les Moisissures agissant surtout par traumatisme direct. Ce caractère distinctif est insuffisant, car on n'a pas démontré, de façon irréfutable, que les Moisissures n'éla-

borent aucun produit soluble; d'autre part, l'action mécanique de plusieurs Bactéries ne saurait être mise en doute.

Il vaut mieux rapporter cette différence à la façon dont se comporte, dans l'organisme, la matière inoculée : « chez les Bactéries les germes inoculés se reproduisent sur place et pullulent chez l'individu malade; aussi sont-ils très facilement transmissibles d'un animal à un autre. Dans les mycoses, au contraire, à part quelques exceptions, les spores injectées qui se développent n'arrivent pas à maturité. Produisant simplement un mycélium sans fournir de nouvelles graines, elles sont incapables de donner naissance à des foyers secondaires. Pour qu'une nouvelle inoculation ait lieu, il faut qu'il se produise une fructification, et celle-ci n'est possible qu'au contact de l'air ; elles sont donc, en général, non transmissibles d'un animal à l'autre. » (Lucet).

V. — Il faut reconnaître que le plus grand nombre des mycoses, incombant aux Moisissures, doit être attribué aux *Aspergillus* et en particulier à l'*A. fumigatus*. Ce genre *Aspergillus*, dont quelques espèces ont été admises parmi les ASCOMYCÈTES, garde encore la plupart de ses représentants parmi les MUCÉDINÉES, et seule l'aspergillose, ou mycose aspergillienne, a été sérieusement étudiée dans ses diverses manifestations spontanées et expérimentales.

Est-ce à dire que le rôle pathogène des espèces de la seconde famille, celle des MUCORINÉES, doive être considéré comme négligeable? On le croirait volontiers à la lecture des notes ou observations, éparses dans la littérature, auxquelles ces espèces ont donné lieu : les unes n'ont que la valeur de simples citations, les autres sont rapportées d'une façon incomplète. Quelques cas cependant, mieux observés, attestent formellement leurs propriétés virulentes.

Le mémoire de Podack sur les mucormycoses n'autorise-t-il pas l'hypothèse d'une relation de cause à effet entre le *Mucor corymbifer* et le soi-disant endothéliome signalé par cet auteur? plusieurs communications concernant une variété de « Langue noire » ne laissent-elles pas entrevoir que ces affections étaient dues à une espèce mucorienne?

Les travaux de Lichtheim, de Lindt, de Stange, de Klissitch, de Lucet et Costantin, sur lesquels nous reviendrons, ont montré surabondamment que le pouvoir pathogène des MUCORINÉES était comparable à celui des *Aspergillus*. De plus, l'inoculation aux ani-

maux de plusieurs espèces, isolées de légions pathologiques ou vivant à l'état de saprophytes, a permis d'établir quelques caractères différentiels entre les deux variétés de mycoses. Il y avait là des faits curieux à vérifier et peut-être des erreurs à redresser.

Si l'on veut bien songer aussi que la détermination des Moisissures, dans nombre de cas de mycoses spontanées, n'a été faite que par un simple examen microscopique, que cette détermination est en général une opération longue et délicate à laquelle les Médecins ne sont guère préparés, on peut se demander si de temps à autre il ne s'est pas glissé une confusion entre les divers Champignons pathogènes. C'est pourquoi il nous a paru intéressant de grouper les documents cliniques concernant les Mucorinées parasites, afin d'établir la part légitime qui revient aux Mucormycoses.

En outre, l'identification absolue des espèces expérimentées, l'usage exclusif de cultures pures obtenues dans des conditions identiques, les inoculations pratiquées en observant toutes les règles de l'asepsie, nous ont permis de répéter un certain nombre d'essais et d'apporter quelques faits nouveaux à l'histoire des mycoses expérimentales.

Enfin, de même qu'il est indispensable de connaître l'anatomie des organes avant d'en apprendre les fonctions, il était logique d'exposer, au préalable, les caractères botaniques et biologiques de tous les organismes dont il allait être question.

En un mot, nous avons entrepris de réunir l'ensemble de nos connaissances sur les Mucorinées pathogènes et les mucormycoses de l'Homme et des animaux, en y ajoutant les résultats de nos propres expériences. Mais de pareilles recherches réclament nécessairement de leur auteur un bagage scientifique qu'il est difficile de posséder au complet ; on comprendra donc que des lacunes subsistent et que certains points auraient mérité une étude plus longue et plus approfondie. Notre ambition sera néanmoins amplement satisfaite si nous avons pu contribuer pour une part, si minime soit-elle, à l'étude de la mycologie parasitaire, en justifiant ainsi les paroles autorisées qui ont été inscrites en tête de ce travail afin d'indiquer l'esprit qui en a inspiré la genèse.

Plan du travail

Notre travail se divise naturellement en trois parties.

La première est consacrée à l'étude botanique et biologique des espèces pathogènes. Nous la faisons précéder des notions de botanique cryptogamique que nous estimons indispensables à la clarté du sujet.

Dans la deuxième nous analysons les différentes notes et les mémoires concernant l'existence et le rôle pathogène des Mucorinées chez les animaux et chez l'Homme. Nous rapportons également les principales observations de mucormycoses spontanées.

Enfin, la troisième partie, complément indispensable de la précédente, fait connaître les diverses tentatives expérimentales auxquelles les Mucorinées ont donné lieu, soit pour déterminer ou modifier leur degré de virulence, soit pour établir le siège et les caractères des lésions obtenues.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE BOTANIQUE DES MUCORINÉES PATHOGÈNES

Caractères généraux des Mucorinées. — Classification

La famille des Mucorinées, qui doit son nom au genre *Mucor* (Moisissure), a été classée par Van Tieghem (1) dans l'ordre des Oomycètes qui se distinguent de tous les autres Champignons par la propriété qu'ils possèdent de former des œufs ou des zygospores. D'autres auteurs, se basant sur ce même caractère, la placent dans l'ordre des Zygomycètes qui appartient au grand groupe des Champignons Phycomycètes créé par De Bary (2) en 1866 [Berlese et De Toni (3), Fischer (4), Schröter (5)].

Les Mucorinées présentent, en outre, les caractères différentiels suivants : elles sont constituées par un thalle ou mycélium filamen-

(1) P. Van Tieghem, *Traité de Botanique*, 1891.
(2) A. De Bary, *Morphologie und Physiologie der Pilze*, 1866.
(3) P. Saccardo, *Sylloge Fungorum*, VII, 1888.
(4) L. Rabenhorst, *Kryptoganem-Flora*, *Pilze*, I, 4, 1892.
(5) A. Engler et K. Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, I, 1, 1897.

teux très développé et non cloisonné; leurs organes de reproduction sont représentés ou bien par des spores agames qui naissent en nombre plus ou moins considérable à l'intérieur de cellules mères appelées sporanges, ou bien par des spores toujours agames,

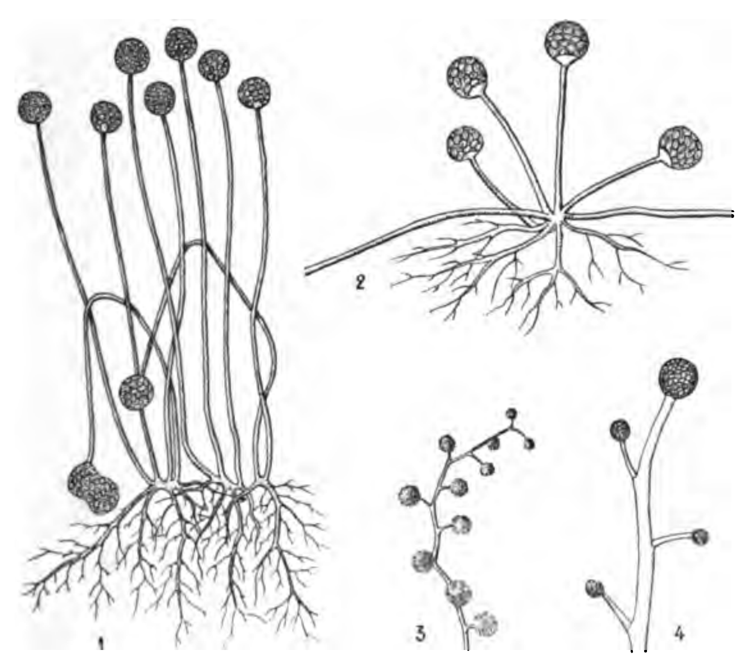


Fig. 1. — *Mucor mucedo* : 1, groupe de filaments ou pédoncules sporangifères simples avec leur mycélium (d'après Kerner). — *M. alternans* : 3, pédoncule ramifié en grappe (d'après Gayon et Dubourg). — *M. racemosus* : 4, même disposition. — *Rhizopus nigricans* : 2, nœud, pourvu de rhizoïdes, au niveau duquel s'élève une ombelle sessile de pédoncules sporangifères ; à droite et à gauche deux filaments stolonifères (d'après nature).

mais isolées ou en chaînettes, désignées sous le nom de conidies, ou encore par des œufs ou zygospores qui proviennent de la conjugaison de deux cellules mères ou gamètes (1). Ces diverses spores sont toutes susceptibles de germer en produisant un tube germinatif, point de départ d'un nouvel individu.

(1) Pour nous conformer à un usage admis par la plupart des auteurs, nous emploierons indifféremment les deux termes d'œuf et de zygospore. Cette synonymie n'est cependant pas rigoureusement exacte : le mot œuf a une signification plus générale puisqu'il s'applique à tous les cas de conjugaison; celui de zygospore devrait être réservé aux seuls cas où la conjugaison a lieu par isogamie.

ORGANES VÉGÉTATIFS. — Le thalle, ou filament mycélien, non cloisonné, se ramifie toujours un grand nombre de fois, le plus souvent latéralement (*Mucor*), quelquefois en dichotomie (*Mortierella*). A mesure que cette ramification progresse, le mycélium le plus ancien perd son protoplasme qui se concentre dans les extrémités jeunes. Les parties âgées se séparent alors par des cloisons transversales, qui isolent en quelque sorte ce qui est vivant de ce qui est mort, et présentent ainsi l'apparence d'un thalle cloisonné.

Tous les rameaux (ou hyphes) de ce mycélium peuvent être semblables, mais souvent on y observe une différenciation : les branches principales portent de chaque côté des rameaux courts, divisés en un pinceau de ramuscules qui sont les organes d'absorption et de fixation du thalle. Ordinairement indépendants les uns des autres, ces rameaux peuvent se souder et s'anastomoser à chaque point de contact (*Mortierella*).

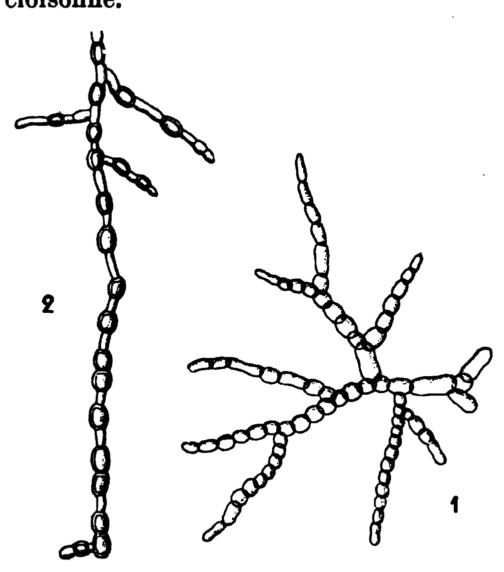


Fig. 2. — *Mucor racemosus* : 1, formation de gemmes au sein d'une solution sucrée; 2, chlamydospores prenant naissance sur le mycélium (d'après Brefeld).

Le mode de développement des filaments mycéliens est aussi des plus varié : tantôt il a lieu dans l'air, à la surface du milieu nutritif dans lequel il n'enfonce que ses rameaux absorbants (*Rhizopus*, fig. 1-2; *Mortierella*); il peut s'étendre alors à une assez grande distance du substratum nourricier en rampant sur les corps voisins auxquels il se fixe au moyen de crampons, et forme ainsi de véritables stolons; tantôt au contraire le thalle se développe presque en entier à l'intérieur du milieu nutritif, ne donnant dans l'air que des hyphes sporangifères (*Mucor*, fig. 1-1 ; *Phycomyces*).

Dans certaines conditions de culture, par exemple si on raréfie la proportion d'oxygène libre, on voit les filaments mycéliens se comporter d'une manière différente. Chez les uns le thalle cesse de croître et ne tarde pas à périr (*Mucor mucedo*); chez les autres il continue à se développer mais en subissant une déformation remarquable (*Mucor racemosus*, fig. 2-1; *M. Rouxi*) : les rameaux nouvellement formés se divisent par des cloisons transversales en articles courts — gemmes, cystes ou oïdies — qui s'arrondissent en prenant la forme de spores ou de Levûres, et constituent ainsi des chapelets plus ou moins réguliers, simples ou rameux. Ces gemmes se séparent facilement les uns des autres et peuvent bourgeonner à la façon des Levûres. Si l'oxygène continue à manquer, ce bourgeonnement s'arrête et les gemmes ne tardent pas à périr, mais si, au contraire, on rétablit le contact de l'air, chacun d'eux germe en régénérant un nouveau mycélium qui est semblable au mycélium primitif. De plus, si le milieu nutritif renferme de la glycose, celle-ci sera décomposée par la pseudo-levûre (agissant à l'abri de l'air) en subissant la fermentation alcoolique, tout aussi bien qu'avec la Levûre de bière; la seule différence qui existe entre les deux Champignons est que le *Mucor* est incapable d'intervertir le sucre de canne, et par conséquent ne le fait pas directement fermenter.

Enfin, lorsque les conditions de végétation deviennent par trop défavorables, plusieurs espèces produisent des chlamydospores : le protoplasme se condense en petites masses renflées, disséminées dans le mycélium, qui s'isolent par deux cloisons transversales, s'entourent d'une membrane cellulosique propre et passent à l'état de vie latente (1). Ces pseudo-kystes seront plus tard mis en liberté par la destruction de cette membrane et pourront alors germer en produisant de nouveaux thalles (*Mucor racemosus*, fig. 2-2 ; *M. circinelloïdes*, *Mortierella*, fig. 8-3, etc.).

MODES DE REPRODUCTION. — Les Mucorinées se reproduisent par spores proprement dites, par conidies ou spores accessoires et par œufs ou zygospores.

1° *Appareil sporangial.* — Lorsque le thalle a atteint un dévelop-

(1) Plusieurs auteurs se plaisent à considérer comme synonymes les deux termes : *gemme* et *chlamydospore*. Il suffit de se rappeler leurs étymologies pour se rendre compte qu'une pareille confusion ne devrait pas exister.

pement capable d'assurer une nutrition suffisante, on voit des rameaux se dresser dans l'air et se renfler à leur extrémité en un sporange. Ce renflement ne tarde pas à se séparer du pédoncule par une cloison, et dans le genre *Mucor* en particulier, cette cloison se bombe et se relève à l'intérieur du sporange pour constituer la columelle (fig. 3-1); dans d'autres genres au contraire la cloison

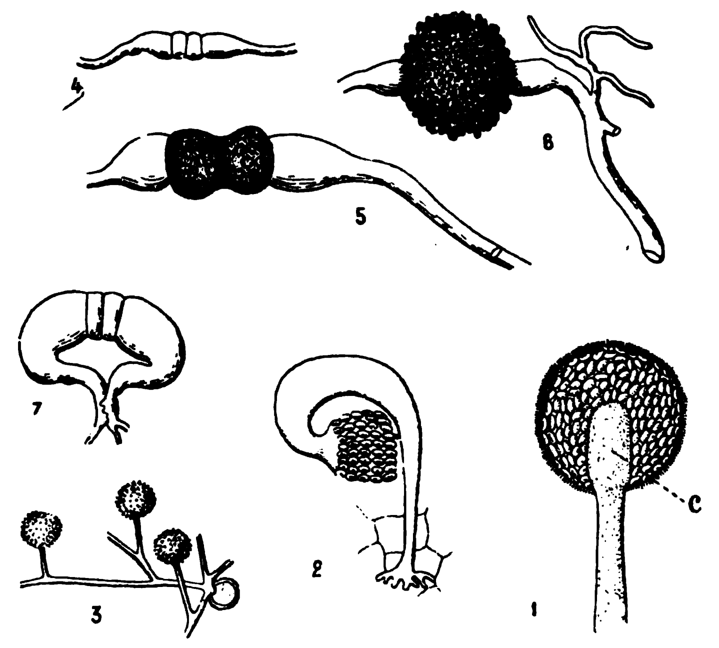


Fig. 3. — *Mucor mucedo* : 1, extrémité d'un filament sporangifère, avec sporange, spores et columelle *c*. — Formation de l'œuf : 4, mise en contact des deux filaments générateurs et séparation des deux gamètes; 5, fusion des gamètes, grossissement de l'œuf et des filaments suspenseurs; 6, œuf (zygospore) mûr (d'après Brefeld). — *Syncephalis Cornu* : 2, filament sporangifère avec sporanges tubuleux et spores (d'après Van Tieghem). — *Mortierella polycephala*: 3, appareil conidien (d'après Van Tieghem). — *Phycomyces nitens* : 7, début de la formation d'une zygospore (d'après Van Tieghem).

reste plane et se trouve soit à la base même, soit à l'intérieur du sporange (*Rhizopus*, *Mortierella*, fig. 8-1, etc.).

Le contenu très dense du jeune sporange, d'abord polynucléaire, se divise bientôt en un grand nombre de petites cellules, possédant chacune un noyau, qui s'isolent les unes des autres par gélification de la couche moyenne des membranes, s'arrondissent, s'entourent

d'une membrane de cellulose et forment autant de spores indépendantes.

Le rameau, pédoncule — ou hyphe sporangifère — intermédiaire entre le mycélium et le sporange, ne renferme plus alors qu'un contenu hyalin avec quelques cristalloïdes albuminoïdes. Tantôt ce pédoncule est simple (*Mucor mucedo*, fig. 1-1 ; *Phycomyces*, etc.); tantôt il est diversement ramifié : en grappe (*Mucor racemosus* et *M. alternans*, fig. 1-4 et 1-3), en épi (*Chætocladium*), en capitule (*Syncephalis*, fig. 3-2), en ombelle pédicellée (*Mucor corymbifer*, pl. I), ou sessile (*Rhizopus nigricans*, fig. 1-2). Il est quelquefois muni à sa base d'un crampon rameux, antérieur à sa formation, qui le nourrit avant de le supporter (rhizoïdes des *Rhizopus*, fig. 1-2).

Le sporange est généralement sphérique ou piriforme (*Mucor*), parfois allongé en massue (*Absidia*) ou en étroit cylindre (*Syncephalis*, fig. 3-2). Dans les deux premiers cas, les spores sont le plus souvent nombreuses; dans le dernier il n'en existe qu'une rangée disposée en chapelet. Ordinairement tous les sporanges ont la même forme ; mais dans quelques espèces, on en trouve de deux sortes : un grand sporange situé au sommet du pédoncule principal et de nombreux petits sporanges ou sporangioles qui terminent les pédicelles secondaires.

Le mode de déhiscence des sporanges est également variable. Presque toujours la membrane sporangiale subit une gélification totale, puis une liquéfaction, qui met les spores en liberté : elle est dite diffluente (*Mucor*, *Rhizopus*). Ailleurs, elle se cutinise et se colore dans la moitié supérieure du sporange, ne restant soluble que dans sa région inférieure où la déhiscence s'opère circulairement (*Pilobolus*). Plus rarement enfin la membrane est entièrement persistante et le sporange indéhiscent ne se détruit qu'à la surface du sol (*Thamnidium, Chætocladium*).

Les spores ont un protoplasme incolore ou coloré quelquefois en jaune (*Pilobolus*); leur membrane demeure généralement lisse et cellulosique. mais elle peut s'épaissir par cutinisation de sa couche externe et présente dans ce cas des ornementations variées (*Rhizopus*, *Mortierella*). En germant elles donnent naissance à un tube mycélien qui ne tarde pas à se ramifier pour devenir un thalle de nouvelle formation.

2° *Appareil conidien.* — En outre des spores ordinaires, certaines Mucorinées forment des conidies lorsqu'on les place dans des conditions de culture autres que celles où elles produisent normalement des sporanges (*Mortierella*, fig. 3-3; *Syncephalis*); leur thalle émet alors des petits rameaux isolés ou diversement groupés qui se terminent chacun par une spore.

Ces conidies, appelées encore stylospores, se distinguent aisément des spores ordinaires contenues dans les sporanges : leur membrane est plus épaisse, et souvent même elle est échinulée; elles sont susceptibles de germer en produisant, soit un nouveau thalle, soit un filament aérien surmonté d'un petit sporange renfermant des spores

3° *Œufs ou Zygospores.* — Chez les Mucorinées, les œufs prennent naissance quand les conditions de nutrition deviennent défavorables au développement et lorsque l'existence de la plante est mise en péril, soit par étouffement, soit par dessiccation ou par refroidissement.

A cet effet deux filaments mycéliens se rapprochent par leurs extrémités jusqu'à prendre contact et isolent, par des cloisons, leurs parties terminales (fig. 3-4); puis les membranes mitoyennes des deux cellules ainsi isolées (ou gamètes) se gélifient, se résorbent, et leur contenu se fusionne, protoplasme à protoplasme et noyau à noyau. Ainsi se constitue, par isogamie, quelquefois par hétérogamie, l'œuf que l'on désigne encore sous le nom de zygospore (fig. 3-5 et 6). Les parties avoisinantes des deux filaments générateurs ont été appelées les deux suspenseurs.

L'œuf une fois formé ne demande qu'à s'accroître : il multiplie ses noyaux, mais sans produire de cloisons intermédiaires, et il s'enveloppe d'une membrane épaisse, qui est recouverte par la membrane primitive des deux gamètes. Cette membrane propre est elle-même constituée par deux couches, l'externe cartilagineuse et verruqueuse (exospore), l'interne restant cellulosique (endospore). Son protoplasme, toujours riche en matières grasses, renferme de nombreux noyaux.

La conjugaison a lieu dans l'air (*Absidia*), à la surface du milieu nutritif (*Phycomyces*), ou dans son intérieur (*Mucor*). Tantôt les deux rameaux générateurs marchent l'un vers l'autre en partant de directions opposées (*Mucor*, *Rhizopus*); tantôt ils naissent de points

voisins et cheminent parallèlement avant d'unir leurs extrémités (*Syncephalis*); tantôt enfin, ils présentent une disposition intermédiaire : unis à la base, ils s'éloignent l'un de l'autre pour se réunir ensuite en forme de tenailles (*Mortierella*, *Phycomyces*, fig. 3-7).

Presque toujours, les deux gamètes sont de même grandeur, mais quelquefois l'un est plus petit que l'autre, d'où une tendance à l'hétérogamie (*Rhizopus*). Ordinairement ils sont discoïdes et l'œuf ressemble à un tonneau, mais ils peuvent être arqués ou recourbés et l'aspect de l'œuf se trouve par suite modifié et présente la forme d'un V ou d'un U.

Plus tard, lorsque les conditions extérieures redeviennent favorables, l'œuf, qui représente un véritable embryon, se développe sur place, après rupture de sa membrane cartilagineuse. Dans un milieu nutritif, le protoplasme, entouré par la membrane cellulosique, s'allonge en un tube, qui bientôt se ramifie et fournit un nouveau mycélium. Si la germination a lieu dans l'air humide, le tube se dresse aussitôt et se termine par un sporange normal.

Quelques Mucorinées possèdent des œufs qui sont enveloppés et protégés par des formations particulières des deux rameaux suspenseurs. Ces ramuscules protecteurs sont disposés soit en un seul verticille de chaque côté (*Phycomyces*), soit en plusieurs verticilles (*Mortierella*); ils sont simples ou rameux, ou même enchevêtrés à la façon d'un pseudo-parenchyme (carpospore).

4° *Apogamie.* — Il arrive parfois (*Absidia*, *Choanephora*) que les deux rameaux générateurs n'arrivant pas en contact, ou bien même que le contact ayant lieu, la conjugaison ne se produise pas. Dans ce cas les gamètes grandissent en s'entourant d'une membrane épaisse, prennent l'aspect d'un œuf et peuvent germer comme lui : ce sont des azygospores.

Répartition géographique. Habitat. — Le nombre des Mucorinées connues s'élève à environ 130 espèces, réunies en 22 genres. Presque toutes ont été décrites en France ou dans l'Europe centrale; les espèces extra-européennes ont été peu étudiées, sauf toutefois le *Choanephora*, qui est originaire des régions tropicales.

Les Mucorinées vivent le plus souvent en saprophytes sur les matières végétales ou animales en voie de décomposition : pain, fruits, matières sucrées, excréments, etc. Plusieurs constituent les

Moisissures les plus vulgaires (*Mucor mucedo, Rhizopus nigricans*) ; quelques-unes sont parasites sur d'autres Mucorinées, sur des Champignons et même sur des phanérogames (*Syncephalis*, *Chætocladium*, *Choanephora*) ; quelques autres enfin peuvent être considérées comme de véritables espèces pathogènes de l'Homme et des animaux sur lesquels elles ont été rencontrées (*Mucor corymbifer*, *Rhizomucor parasiticus*, etc.).

CLASSIFICATION DES GENRES (1)

Hyphes sporangifères hyalines ou colorées ; double reproduction : agame par spores et chlamydospores, sexuée par zygospores.

A. — Présence d'une columelle ; jamais de conidies. — Hyphes mycéliennes épaisses, sans anastomoses.
  a. — Sporange polyspore.
    α. — Membrane sporangiale hétérogène, cuticularisée à la partie supérieure, diffluente en anneau à la base . PILOBOLÉES.
    β. — Membrane sporangiale homogène, diffluente en totalité ou persistante . . . . MUCORÉES.
  b. — Sporange monospore . . . . CHAÉTOCLADIÉES.
B. — Pas de columelle ; présence de conidies. — Hyphes mycéliennes fines et anastomosées.
  a. — Sporange sphérique . . . . MORTIÉRELLÉES.
  b. — Sporange cylindrique . . . . SYNCÉPHALIDÉES.

Sous-Famille I. — PILOBOLÉES

Membrane sporangiale diffluente à la base ; sporange polyspore.

A. — Sporange projeté ; spores d'une couleur jaunâtre. *Pilobolus*.
B. — Sporange soulevé par l'accroissement du pédoncule ; spores d'une couleur jaunâtre . . . . *Pilaira*.
C. — Sporange d'abord voilé, puis nu ; spores incolores. *Chordostylum*.

Sous-famille II. — MUCORÉES

Membrane sporangiale diffluente en totalité ou persistante ; sporange polyspore.

A. — Hyphes sporangifères à croissance définie.
  a. — Pédoncules sporangifères uniformes.
    α. — Hyphes simples, rarement rameuses, jamais dichotomes.
      I. — Rameaux sexués droits ; spores hyalines ou colorées . . . *Mucor*.

(1) P. A. SACCARDO, *Sylloge fungorum*, VII, p. 182, 1888.

II. — Rameaux sexués arqués.
épineux; spores sub-hyalines. . . . . . *Phycomyces.*
nus; spores devenant noires . . . . . . *Spinellus.*
β. — Hyphes dichotomes; spores sub-hyalines brunâtres, puis sub-hyalines. . . . . *Sporodinia.*
b. — Pédoncules sporangifères dimorphes.
α. — Pédoncules sporangifères simples.
Rameaux droits; spores sub-hyalines bleuâtres. *Chætostylum.*
Rameaux spiralés; spores hyalines . . . . *Helicostylum.*
β. — Pédoncules sporangiolifères dichotomes; spores hyalines bleuâtres . . . . *Thamnidium.*
B. — Hyphes sporangifères à croissance indéfinie.
a. — Pédoncules sporangifères le plus souvent incurvés; membrane sporangiale diffluente.
α. — Pédoncules sporangifères en croissant ou en crosse, puis droits; columelle sub-globuleuse . . . . *Rhizopus.*
β. — Pédoncules sporangifères arqués en sympode; columelle conique . . . . *Absidia.*
γ. — Pédoncules d'*Absidia*; portent aussi des sporangioles . . . *Tieghemella.*
b. — Pédoncules sporangifères en croissants ou en crosses; membrane sporangiale non diffluente.
α. — Membrane sporangiale se rompant transversalement par le milieu; sporange globuleux . . . . . . *Circinella.*
β. — Membrane sporangiale très-résistante; sporange piriforme. *Pirella.*

Sous-Famille III. — Chaétocladiées

Hyphes sporangifères à extrémité stérile, portant latéralement des pédicelles sporangifères; sporange monospore.

Sporanges caducs; spores colorées. . . . . . . *Chaetocladium.*

Sous-Famille IV. — Mortiérellées

Pédoncules sporangifères rameux; sporange sphérique, polyspore; pas de columelle.

A. — Hyphes sporangifères dilatées à la base . . . *Mortierella.*
B. — Hyphes sporangifères non dilatées à la base. . *Herpocladium.*

Sous-Famille V. — Syncéphalidées.

Hyphes sporangifères renflées au sommet en vésicules sporangifères; Sporange cylindrique, simple ou rameux; spores en séries.

A. — Hyphes sporangifères, plusieurs fois dichotomo-rameuses, amincies au sommet des rameaux, portant une large vésicule munie de nombreux sporanges cylindriques.
Spores cylindriques ou fusiformes . . . . . . *Piptocephalis.*

B. — Hyphes sporangifères simples ou rameuses, portant au sommet une vésicule tuberculeuse, munie de sporanges cylindriques nombreux, simples ou rameux.

a. — Hyphes sporangifères d'abord simples, puis bifurquées, fixées par des rhizoïdes à la base, naissant d'un mycélium très-ténu, s'anastomosant. . . . . *Syncephalis.*

b. — Hyphes sporangifères ramifiées en ombelles, dépourvues de rhizoïdes à la base . . . . *Syncephalastrum.*

J. Schröter a établi une sixième sous-famille, celle des Choanophorées, caractérisée par la présence de sporanges, avec petites columelles, et de conidies. Elle ne comprend que le genre *Choanephora* qui vient donc se placer naturellement entre les Mucorinées à columelles sans conidies (Pilobolées, Mucorées, Chætocladiées) et les Mucorinées sans columelles mais avec conidies (Mortiérellées, Syncéphalidées).

Caractères morphologiques et biologiques des Mucorinées pathogènes

Les Mucorinées considérées actuellement comme pathogènes de l'Homme et des animaux sont encore en petit nombre, car neuf espèces seulement, dont deux sont douteuses, méritent d'être acceptées comme telles. Cinq appartiennent au genre *Mucor* : *M. corymbifer, M. ramosus, M. Truchisi, M. Regnieri, M. pusillus ;* deux au genre *Rhizomucor* : *R. parasiticus* et *R. septatus* (?) ; deux au genre *Rhizopus* : *R. Cohni* et *R. niger* (?).

Mais à côté de ces diverses espèces dont le rôle pathogène nous paraît suffisamment démontré, il en existe quelques autres, à virulence problématique, qui ont été rencontrées, avec plus ou moins de certitude, sur l'Homme ou sur les animaux (*Mucor mucedo, M. racemosus,* et *Rhizopus nigricans*). L'énumération de leurs caractères a donc sa place indiquée dans cette étude, ne serait-ce que pour mettre en garde contre une erreur possible et faciliter d'autant les déterminations futures ; pour des raisons analogues nous ajouterons aussi des notions générales sur les *Mortierella* (1).

(1) Quelques petites espèces, à caractères mal définis et également décrites comme parasites, ne méritent, de notre part, qu'une simple mention :

Mucor scarlatinosus, signalé chez l'Homme par Hallier (*Zeitschrift für Parasitenkunde,* I, 1869) ;

M. helminthophthorus De Bary et Keferstein, trouvé dans l'intestin et dans les organes génitaux de l'*Ascaris myxtax* (*Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie,* XI, 1861-1862 ;

M. melittophthorus Hoffmann, rencontré dans l'estomac des Abeilles (*Hedwigia,* I, 1857).

I. — **Mucor** Micheli, 1729 ; Link, 1824.

Mycélium uniforme, répandu à l'intérieur ou à la surface du substratum, extrêmement ramifié, dépourvu de filaments en forme de stolons avec des rhizoïdes, unicellulaire ou pourvu de rares cloisons transversales, à contenu incolore, exceptionnellement rouge orange, à membrane lisse et incolore. Hyphes, pédoncules ou filaments sporangifères naissant isolément, mais dont l'ensemble constitue un gazon épais, dressés, simples ou ramifiés, terminés par des sporanges ; ramifications monopodiales, en grappes, panicules ou corymbes, quelquefois en cymes avec un sporange à l'extrémité du filament principal, jamais dichotomes. Sporanges dressés, tous semblables, différant seulement par la grosseur, polysporés, globuleux, de coloration variable, s'ouvrant, le plus souvent sur le pédoncule. Membrane sporangiale non cuticularisée, plus ou moins incrustée de fines aiguilles d'oxalate de chaux, diffluant généralement dans l'eau avec facilité, mais en laissant une collerette basilaire ; quelquefois persistant entière avec déhiscence ultérieure. La cloison qui sépare le sporange du pédoncule se bombe et se relève à son intérieur et constitue une columelle dont la forme est variable : elle est incolore ou diversement colorée. Spores sphériques ou ovoïdes, à membrane mince et lisse, incolores ou colorées. Zygospores nues, apparaissant sur le mycélium, exceptionnellement sur des filaments spéciaux; suspenseurs dépourvus de ramifications protectrices; filaments copulateurs droits. Conidies (stylospores) inconnues. Chlamydospores terminales ou intercalaires, de formes variables ; n'ont pas été observées chez toutes les espèces. Gemmes ou formations oïdiennes résultant du cloisonnement et de la segmentation du mycélium, pouvant, chez certaines espèces, remplir le rôle de ferment.

MUCOR CORYMBIFER.

[Espèce découverte par Lichtheim; décrite par Cohn en 1884 (1)]

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Mycélium blanc neigeux, puis gris clair, recouvrant complètement le substratum nutritif. Hyphes mycéliennes rampant sur ce substratum ou s'élevant au-dessus ; souvent très-larges (15 µ), ramifiées en fourche, avec membrane et protoplasme incolores.

Pédoncules sporangifères rampants, ramifiés en grappe corymbifère, terminés par un ou plusieurs sporanges, plus ou moins longuement pédicellés. Au-dessous du corymbe terminal, on rencontre souvent un certain nombre de petits sporanges isolés, à pédicelles courts et disposés en grappe.

Sporanges piriformes, rétrécis à la base, avec apophyse terminant le

(1) L. LICHTHEIM, Ueber pathogene Mucorineen und die durch sie erzeugten Mykosen des Kaninchens. *Zeitschrift für klinische Medicin*, VII, p. 140, 1884.

pédoncule; les plus gros ont un diamètre transversal de 70 μ, les moyens ds 45 à 60 μ, les plus petits de 15 à 20 μ. Membrane sporangiale lisse, incolore, transparente, diffluente, pouvant former une collerette basilaire.

La masse des spores est également transparente, même quand ces spores sont mûres ; elle remplit la totalité du sporange et la columelle est difficile à distinguer.

Columelle largement insérée, hémisphérique, voûtée, de 10 à 20 μ de large, lisse ou parfois verruqueuse, d'une couleur gris foncée ou brune. L'apophyse qui termine le pédoncule prend aussi cette coloration et forme avec la columelle un ensemble brunâtre, presque sphérique, qui surmonte ce pédoncule après la déhiscence du sporange.

Spores oblongues, lisses, incolores, très petites: 3 μ de longueur sur 2 μ de largeur ; quelques-unes, plus grosses, ont 6 μ 5 sur 4 μ.

Zygospores inconnues (pl. I).

Cultures et caractères biologiques. — Les cultures sur milieux solides naturels s'obtiennent avec la plus grande facilité : le pain mouillé, la pomme de terre, les tranches de choux, la carotte, donnent d'excellents résultats.

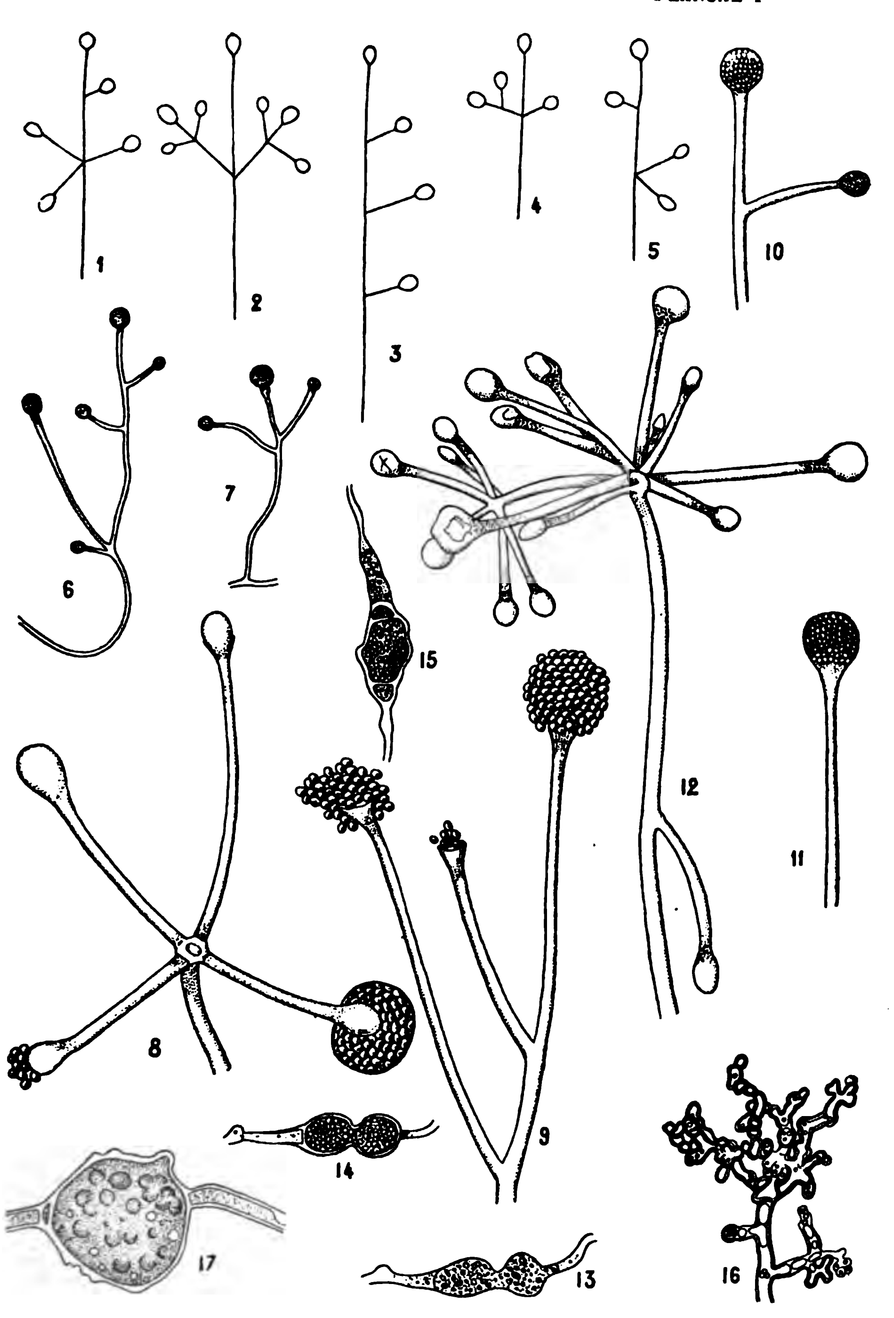
Certains milieux solides artificiels et notamment les substrata sucrés, à réaction faiblement acide, fournissent également des cultures abondantes. Pour nos recherches nous avons utilisé, avec avantage, soit une décoction de pain gélosée, soit un milieu sucré également gélosé, soit encore un des milieux glucosés-peptonisés que Sabouraud a préconisés pour l'étude des Champignons des teignes tondantes (1). Sur milieu Raulin acide, solidifié par la gélose, le mycélium reste toujours chétif.

Le *M. corymbifer* pousse mal sur milieux liquides artificiels : les spores tombent rapidement au fond des vases et donnent péni-

(1) Voir ci-après p. 94.

Explication de la Planche I.

Mucor corymbifer. — Fig. 1, 2, 3, 4, 5, divers aspects de ramifications sporangiales. — Fig. 6, 7, filaments fructifères d'une culture de sept jours (d'après Lichtheim). — Fig. 8, 9, sporanges après la déhiscence (d'après Lichtheim). — Fig. 10, 11, sporanges terminaux à l'état de maturité avec un sporange latéral en voie de développement (× 270, d'après Hückel). — Fig. 12, filament fructifère terminé par une ombelle primaire et une ombelle secondaire (× 270, d'après Hückel). — Fig. 13, 14, 15, formation des Chlamydospores. — Fig. 16, formation de gemmes. — Fig. 17, pseudo-zygospore (× 270, d'après Hückel).



Mucor corymbifer Lichtheim.

blement un mycélium immergé, peu vigoureux, qui constitue des flocons au sein du liquide.

La croissance abondante et rapide du *M. corymbifer* dans les reins et en particulier dans les tubes urinifères des animaux inoculés, nous avait amené à supposer que sa culture pourrait être obtenue sur de l'urine. Avec l'urine humaine et normale, stérilisée à froid, la germination est lente et le développement, toujours faible, est identique à celui fourni par les milieux liquides artificiels. Si on stérilise l'urine à 110°, après addition de gélose, et en prenant la précaution d'acidifier légèrement le milieu qui est devenu alcalin, le résultat n'est pas meilleur. Même insuccès avec un substratum artificiel à base d'urée.

La température a une influence considérable sur la croissance du Champignon. Déjà à la température ordinaire de 12° à 15° les spores germent facilement en produisant un mycélium gazonnant qui, au bout de trois ou quatre jours, porte de nombreux sporanges. Mais c'est surtout à 36° et 37° que la végétation est véritablement optimale ; au bout de 6 à 10 heures la germination des spores a commencé, et 48 heures après le nombre des sporanges formé est considérable et le mycélium abondamment développé. Si la température s'élève, l'activité végétative va en s'atténuant, et au voisinage de 55° les spores perdent leurs propriétés germinatrices.

La naissance des sporanges apicaux précède généralement celle des sporanges latéraux qui sont insérés au-dessous sur le pédoncule commun. L'extrémité des hyphes sporangifères est d'abord incolore, mais aussitôt que la maturité des sporanges est atteinte, leur membrane prend une coloration jaunâtre, tandis que leur protoplasme devient granuleux.

Dans les cultures dont le substratum est épuisé, et dont le développement se trouve contrarié soit par un excès d'humidité, soit au contraire par sécheresse, mais surtout par manque d'oxygène, le mycélium se transforme en gemmes ou donne des chlamydospores analogues à celles qui ont été décrites chez d'autres espèces, le *M. racemosus* par exemple. Ces diverses formations ont été étudiées principalement par Hückel (1) qui les a obtenues en privant d'air une culture en pleine fructification ou en plongeant dans une

(1) A. Hückel, Zur Kenntniss der Biologie des *Mucor corymbifer*. *Beiträge zur path. Anat. u. Phys.* von Ziegler et Nauwerk, I, p. 115, 1886.

solution de sucre de canne, à 5 p. 100, de petits morceaux de pain recouverts par un épais mycélium de *M. corymbifer*. Après quelques heures, dans le premier cas, les filaments se cloisonnèrent, se renflèrent entre deux cloisons successives, leurs parois s'épaissirent et ils présentèrent l'aspect que nous figurons (pl. I. fig. 13-15). Dans le second cas, l'auteur remarqua au bout de huit jours que le protoplasme des filaments mycéliens se contractait en masses ovoïdes ou cylindriques disposées les unes à la suite des autres. Les extrémités des hyphes subissaient également une modification ; elles se renflaient et donnaient naissance à des formes bourgeonnantes ; de sorte qu'après une quinzaine de jours de cette végétation atténuée la totalité du mycélium se trouva divisée en gemmes ou oïdies (pl. I, fig. 16).

Sur des filaments provenant d'un conduit auditif externe, Hückel a signalé également l'existence d'organes arrondis qu'il a comparés à des zygospores munies de leurs suspenseurs (pl. I, fig. 17). Il dit avoir observé les mêmes formations sur des cultures âgées, mais il reconnaît qu'il n'a jamais assisté à la conjugaison des deux gamètes. De plus, la membrane de ces pseudo-zygospores était toujours unique, ce qui donne à supposer que l'auteur s'est trouvé en présence de chlamydospores d'un volume anormal. Dans nos nombreuses cultures, nous n'avons jamais remarqué de semblables productions.

HABITAT. — Le *M. corymbifer* a été isolé pour la première fois à Berne, en 1884, par Lichtheim, qui le rencontra dans son laboratoire, en même temps que le *Rhizopus Cohni*, sur une décoction de pain. Il fut décrit la même année par Cohn, et paraît être assez répandu (1).

Cette espèce a été observée ultérieurement par Paltauf (1885) chez un Homme mort de mycose généralisée; par Podack (1899) dans un cas de soi-disant endothéliome de la plèvre; par Hückel (1885), par Siebenmann (1889), par Graham (1890), dans le conduit auditif externe. Il est probable qu'il faut lui attribuer aussi les deux cas de mycoses des poumons rapportés par Fürbringer (1876). Son action pathogène sur les animaux a été mise en évidence par les

(1) Récemment, notre confrère M. Bainier a rencontré, à l'état de saprophyte, dans son laboratoire de Belleville, à Paris, une espèce inédite qui nous a paru présenter, à un examen sommaire, les plus grandes analogies avec le *M. corymbifer* de Lichtheim. Est-ce cette espèce elle-même ou une nouvelle variété se rattachant au même stirpe?

recherches expérimentales de Lichtheim (1884) ; de Stange (1892) ; de Klissitch (1899) et enfin par les nôtres (1902).

A propos du *M. corymbifer,* faisons remarquer que Lucet et Costantin ont proposé de le considérer comme un stirpe, c'est-à-dire comme une grande espèce, qui comprendrait avec le *M. corymbifer* de Lichtheim, le *M. ramosus* de Lindt et les *M. Truchisi* et *M. Regnieri* qui font l'objet des descriptions ci-après.

Mucor ramosus

[Découvert et étudié par Lindt en 1886 (1)]

Cette espèce est certainement très voisine de la précédente. Lindt, qui en a fait de nombreuses cultures, avoue que la seule différence, qui se soit maintenue constante, réside dans la forme et les

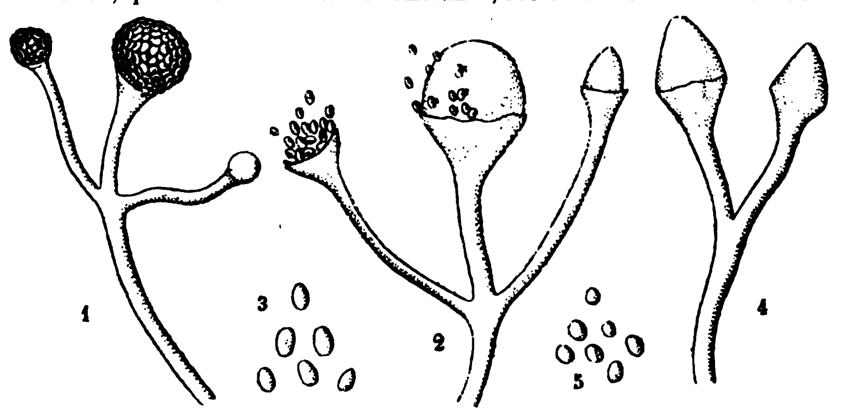


Fig. 4. — *Mucor ramosus* : 1, filament fructifère avec sporanges mûrs (1/330); 2, sporanges après la déhiscence ; aspects de la columelle (1/470); 3, spores. — *M. corymbifer* : 4, aspects de la columelle (1/470) ; 5, spores (d'après Lindt).

dimensions des spores (Fig. 4). Chez le *M. corymbifer* de Lichtheim, nous venons de voir qu'elles ont ordinairement 3 μ de longueur sur 2 μ de largeur ; chez le *M. ramosus* elles seraient plus grosses et atteindraient 5-6 μ de longueur et 3-4 μ de largeur. Notons que l'auteur a signalé également une dissemblance dans la forme de la columelle : chez le *M. ramosus* elle serait plus arrondie. Ces caractères sont-ils suffisants pour créer une nouvelle espèce ?

Lindt a rencontré cette espèce, ou plutôt cette variété, à côté du

(1) W. Lindt, Mittheilungen über einige neue pathogene Schimmelpilze. *Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmak.*, XXI, p. 269, 1886.

M. corymbifer, sur du pain mouillé, dans le laboratoire du professeur Lichtheim, à l'hôpital de Berne. Elle a été signalée par Jakowski dans un cas d'otomycose (1888) et expérimentée sur les animaux par Lindt (1886), puis par Stange (1892); elle se montre très virulente.

MUCOR TRUCHISI

[Espèce découverte et étudiée par Lucet et Costantin en 1901 (1)]

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Mycélium lâche et en général vigoureux, d'une couleur blanchâtre ou gris très faible devenant un peu plus accusé dans les cultures âgées sur milieux solides.

Hyphes ou pédoncules sporangifères ramifiés en grappe corymbifère ou plus souvent encore en ombelle terminale à rayons inégaux, les plus externes étant ordinairement les plus longs.

Pédicelles renflés au-dessous des sporanges, de sorte qu'après la déhiscence, la columelle paraît quelquefois divisée en deux par la collerette basilaire que forment les débris de la membrane sporangiale. Leur épaisseur varie entre 2 μ et 7 μ ; la longueur de ces axes secondaires est également très variable (de 55 à 195 μ).

Sporanges sphériques à membrane translucide, lisse, sans ornements ; leur diamètre moyen est de 35 μ.

Columelles piriformes dans l'ensemble, brunes à la base, et cette teinte va en s'atténuant sur le pédoncule fructifère ; leur largeur moyenne est de 20 à 26 μ ; quelques-unes sont plus petites (4 à 15μ) ou plus grosses (30 μ).

Spores assez régulièrement ovoïdes, un peu allongées. Leurs dimensions moyennes sont de 4 μ de longueur sur 2 μ 5 de largeur; mais il n'est pas rare d'en observer de plus petites (3 μ 75 sur 2 μ 5) et quelquefois d'un peu plus grandes (4 μ 5 sur 3 μ).

Zygospores inconnues. (pl. II).

CARACTÈRES BIOLOGIQUES. — Les caractères ci-dessus, qui sont ceux d'une culture à 25° sur milieu solide, peuvent subir des variations considérables.

Cultivé à basses températures (non déterminées avec précision, mais généralement de 10° à 18°), le *M. Truchisi* reste tout à fait chétif : le mycélium est très peu développé, fin et très délicat; la fructification n'est guère abondante et les pédicelles sont presque toujours simples. Certains sporanges mesurent jusqu'à 70 μ et leurs filaments fructifères 14 μ de diamètre.

Abandonné pendant 5 jours à haute température (à 51°-52°), le

(1) LUCET et COSTANTIN, Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, IV, p. 362, 1901.

mycélium croît assez richement avec un aspect gazonnant et serré, tout à fait inusité; la fructification est abondante. Les sporanges ont en moyenne 26 μ, les columelles de 17 à 19 μ et les pédicelles de 5 à 6 μ; les spores les plus communes mesurent 5 μ sur 3 μ ou encore 5 μ sur 2 μ 5. Si on augmente la période d'exposition à 53° (pendant 17 jours) le développement est encore notable. Soumise à 55°-56°, cette espèce ne pousse plus, et il n'y a pas régénération quand on reporte la culture à 37°.

Toujours d'après Lucet et Costantin, les caractères extérieurs du *M. Truchisi* sont très spéciaux et il se reconnaît aisément à l'œil nu : « il remplit les tubes de culture à peu près complètement d'un feutrage de filaments blanchâtres ou gris très faible qui devient un peu plus accusé dans les cultures âgées sur milieux solides (pomme de terre, navet, etc.) ; en général le feutrage blanc garde cette teinte partout (si l'on n'a pas affaire à une culture trop ancienne), sauf à la partie supérieure qui devient assez rapidement grise, et cela par conséquent dans la région qui demeure au contact de l'air, la Moisissure étant très étouffée dans les autres points par l'excès de puissance végétative. Si l'on a employé pour le semis des tubes étranglés avec pomme de terre, contenant une certaine quantité d'eau au-dessous de l'étranglement, on ne tarde pas à voir le mycélium s'étendre vers le bas et envahir complètement le compartiment inférieur du tube ».

Habitat. — Cette petite espèce a été obtenue en mettant en cultures des croûtes épidermiques recueillies au niveau des lésions d'un Cheval atteint de teigne d'été causée par le *Trichophyton minimum*. Il est probable qu'elle ne jouait aucun rôle dans l'affection observée.

Explication de la planche II.

Mucor Truchisi. — Fig. 1, 2, 3, 5, 6, divers aspects des ramifications sporangiales. — Fig. 7, ombelle terminale avec sporanges après la déhiscence; la membrane est dissoute. — Fig. 8, sporange avant la déhishence. — Fig. 9, spores (d'après Lucet et Costantin).

Mucor Regnieri. — Fig. 4, 10, 11, 12, divers aspects des ramifications sporangiales. — Fig. 13, ramification en grappe. — Fig. 14, ramification en ombelle. — Fig. 15, ombelle terminale avec sporanges après la déhishence; la membrane sporangiale est dissoute. — Fig. 16, sporange avant la déhiscence. — Fig. 17, spores (d'après Lucet et Costantin).



Mucor Truchisi Lucet et Costantin. — *Mucor Regnieri* Lucet et Costantin.

Lucet et Costantin ont placé naturellement le *M. Truchisi* dans le stirpe *corymbifer*. Il se différencie nettement de l'espèce de Lichtheim par la difficulté de se développer aux basses températures. Ces auteurs l'ont expérimenté sur le Lapin et ont démontré son pouvoir pathogène.

Mucor Regnieri

[Espèce découverte et étudiée par Lucet et Costantin en 1901 (1)]

Caractères morphologiques.— Mycélium lâche, à puissance végétative faible, d'une couleur uniforme d'un gris très légèrement nuancé de bleuâtre.

Hyphes ou pédoncules sporangifères ramifiés en grappe corymbifère ou en ombelle terminale à rayons inégaux, les plus longs étant ordinairement les plus externes.

Fructification très abondante. Pédicelles des sporanges renflés au-dessous de ce dernier, de manière qu'après la déhiscence la columelle peut paraître divisée en deux par la collerette basilaire formée par les débris, quand ils existent, de la membrane sporangiale ; leur diamètre varie entre 3 μ et 8 μ, exceptionnellement il atteint 12 et même 19 μ 5. La membrane sporangiale, lisse et transparente, laisse en général (sauf quelques exceptions) peu de traces à la partie supérieure du pédicelle.

Les columelles sont ovoïdes, piriformes, ou quelquefois en toupies, d'une coloration brun clair qui s'étend à une certaine distance sur le pied ; elles sont fréquemment petites (11 μ 7), mais il y en a de plus larges (23 μ, et plus rarement 35 μ).

Spores ordinairement rondes ; leurs dimensions moyennes oscillent entre 3 μ 2 et 3 μ 75 ; il y en a cependant de plus petites, 2 μ 5. A côté de ces spores typiques, il en existe un petit nombre d'ovalaires (3 μ 8 sur 3 μ ; 3 μ 2 sur 2 μ 9) ; quelques-unes sont irrégulières, presque polygonales.

Zygospores inconnues. (pl. II).

Caractères biologiques. — Comme pour l'espèce précédente, les caractères ci-dessus s'appliquent à une culture à 25° sur milieu solide ; ils subissent également des variations suivant les conditions de température.

Cultivé à basses températures (indéterminées, mais presque toujours au-dessous de 20°) le *M. Regnieri* présente un aspect sensiblement normal. Tout le substratum est recouvert par le mycélium ordinaire et les fructifications sont extrêmement abondantes. Les sporanges atteignent 30 et 38 μ et leurs pédicelles 3 μ 8 et 6 μ 5.

A haute température (51-52°) le *M. Regnieri* ne pousse plus du

(1) Lucet et Costantin, *loco citato*.

tout ou pousse très mal : les pédicelles restent simples et grêles ; les sporanges sont de petite taille (19 μ) ; les spores peu nombreuses. A 55°-56°, les cultures sont tuées et par conséquent ne sont plus régénérées quand on les ramène à 37°.

Les caractères extérieurs des cultures du *M. Regnieri* sont différents de ceux décrits à propos du *M. Truchisi*. Sa puissance végétative est beaucoup plus faible, aussi son mycélium ne remplit-il qu'incomplètement les tubes où il est cultivé ; par contre sa puissance de reproduction est plus grande et il fructifie très abondamment dans toute la longueur du tube, de sorte que la teinte des cultures est dissemblable de celle présentée par la précédente espèce ; elle est très rapidement d'un gris faiblement nuancé de bleuâtre. La couleur est uniforme parce que l'air peut circuler entre les filaments beaucoup plus lâches. Si l'on cultive sur pomme de terre, en tube étranglé, la faible vigueur végétative se traduit par un fait assez significatif, car le mycélium n'envahit pas l'étranglement inférieur.

HABITAT. — Cette petite espèce a été également recueillie sur un Cheval appartenant à une autre écurie et présentant une Teigne d'été analogue à la précédente.

Comme le *M. Truchisi*, le *M. Regnieri* appartient au stirpe *corymbifer* ; il se distingue par une puissance végétative plus faible. Il est non moins pathogène à l'égard du Lapin (Lucet et Costantin) (1).

MUCOR PUSILLUS

[découvert et décrit par Lindt en 1886 (2)].

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Mycélium gris clair dont les hyphes minces (5 à 10 μ) rampent sur le substratum ; quelques filaments sont recourbés en arcs stolonifères mais ne présentent jamais de rhizoïdes ; leur protoplasme est finement granuleux ; il n'existe pas de mycélium aérifère proprement dit.

Pédoncules sporangifères d'une longueur maxima de 1 millimètre ; d'une couleur blanche puis jaune brunâtre ; formant un gazon compact ; leur diamètre est de 10 à 20 μ ; d'abord simples, puis incurvés et ramifiés en donnant un, rarement deux, rameaux latéraux qui atteignent les dimen-

(1) Dans leur travail, ces auteurs annoncent la découverte d'une nouvelle variété de *M. corymbifer*, rencontrée sur une Vache atteinte de dermite pustuleuse chronique, d'origine ancienne.

(2) W. LINDT, *loco citato*.

sions du pédoncule principal et se terminent, comme celui-ci, par un sporange qui reste toujours plus petit.

Sporanges incolores au début, noirâtres à la maturité; d'un diamètre de 60 à 80 µ. Membrane sporangiale fortement incrustée de petites aiguilles cristallines, diffluente en laissant ordinairement une collerette basilaire.

Columelle séparée du pédoncule par une cloison transversale; généralement ovoïde, parfois sphérique ou en forme de massue; elle est lisse, gris jaunâtre puis brun clair, à contenu incolore; sa largeùr moyenne est de 50 µ, sa hauteur de 60 µ, mais ces dimensions sont soumises à des variations.

Spores très petites, sphériques, lisses, incolores, d'un diamètre de 3 µ à 3 µ 5.

Zygospores inconnues. (pl. III, fig. 1 et 2.)

Caractères biologiques. — Le *M. pusillus* est certainement l'une des plus petites formes connues de Mucorinées (d'où son nom). A une température de 30° son développement est complet au bout de trois jours; la culture a un aspect velouté, d'une couleur gris-souris, qui est due à l'énorme proportion de sporanges. Ce développement est activé par une température plus élevée de 34° ou de 40°. Sa température maxima n'a pas été fixée, mais sa température optimale est voisine de 45°; à 50° sa végétation est déjà très réduite. A 24°-25° il pousse très lentement, et à la température ordinaire les spores ne germent plus.

Cette espèce croît indifféremment sur l'agar-agar, le pain mouillé et la pomme de terre; un milieu qui lui convient parfaitement est une décoction de pain gélosée additionnée de peptone, de chlorure de sodium et de sucre.

Habitat. — Le *M. pusillus* a été isolé simultanément avec le *M. ramosus* par Lindt, qui a établi ses propriétés pathogènes à l'égard du Lapin. Certains auteurs rapportent à cette espèce l'observation de Jakowski, signalée à propos du *M. ramosus*.

Mucor mucedo Linné, 1764, pro parte; Brefeld, 1872.

Synon. : *M. vulgaris* Micheli, 1729; *M. sphærocephalus* Bulliard, 1791.

Caractères morphologiques. — Pédoncules sporangifères formant un gazon épais, d'une couleur gris d'argent et recouvrant tout le substratum, non ramifiés, hauts de 2 à 15 cm., larges de 30 à 40 µ, sans cloisons transversales; à membrane incolore, lisse et rigide; à contenu peu abondant, incolore ou faiblement coloré en jaune-orange; quelquefois les pre-

miers pédoncules qui apparaissent sur le mycélium sont de petite taille et munis de filaments latéraux irréguliers également terminés par de petits sporanges.

Sporanges volumineux, sphériques, mesurant 100 à 200 μ de diamètre, d'abord jaunâtres, puis plus clairs à l'état humide, mais gris brun ou gris noirâtre à l'état sec, quelquefois à reflets verdâtres. Membrane sporangiale rapidement diffluente, laissant le plus souvent une collerette basilaire, d'abord cellulosique puis fortement incrustée de fines aiguilles d'oxalate de chaux.

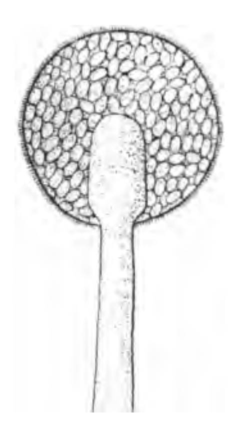


Fig. 5. — *Mucor mucedo* : extrémité d'un filament fructifère avec un sporange mûr et sa columelle (d'après Brefeld).

Columelle dressée, en forme de cylindre, de cloche ou de cône tronqué, haute de 70 à 140 μ large de 50 à 80 μ; sa membrane est lisse et incolore, son contenu le plus souvent jaune orange.

Spores arrondies, cylindriques ou ellipsoïdes allongées, de forme analogue mais de dimensions variables à l'intérieur d'un même sporange, longues de 6 à 12 μ, larges de 3 à 6 μ, à membrane incolore et lisse, à contenu incolore ou faiblement jaunâtre, paraissant également jaunâtres quand elles sont réunies en masses.

Zygospores sphériques, d'un diamètre de 90 à 250 μ (jusqu'à 1 mm. d'après Bainier), à membrane externe noire avec de forts épaississements très proéminents formant des sortes de piquants durs et cassants, à membrane interne incolore; leur contenu est incolore. Les chlamydospores et les gemmes n'ont pas été observés (Fig. 1 et Fig. 3).

Habitat. — Le *M. mucedo* se rencontre en général sur toutes les substances organiques d'origine végétale ou animale en voie de décomposition et plus particulièrement sur les excréments des herbivores et des carnivores, surtout sur le fumier de Cheval : c'est donc une espèce extrêmement commune à l'état de saprophyte. Sa présence a été signalée à différentes reprises sur l'Homme et sur les animaux. Hoffmann chez des Poissons (1867), Hiller (1874) puis Fürbringer (1876) chez l'Homme, ont constaté des mycoses qu'ils ont attribuées au *M. mucedo*; mais dans aucune de ces observations la détermination du parasite n'a été suffisamment établie. De même, si certains ont cru démontrer la virulence des spores de cette espèce à l'égard des animaux, il paraît probable que leurs essais ont été faits avec des cultures impures ; nos expériences prouvent pertinemment que ces spores restent sans action sur les Lapins

et les Cobayes, lorsqu'on les introduit dans le système sanguin.

D'après Hess (1887), ce même Champignon provoquerait chez les Abeilles une affection souvent mortelle, qui est connue sous le nom de « mucorine ».

MUCOR RACEMOSUS Fresenius, 1850.

Synon. : *Pleurocystis Fresenius* Bonorden, 1851 ; *Chlamydomucor racemosus* Brefeld, 1890.

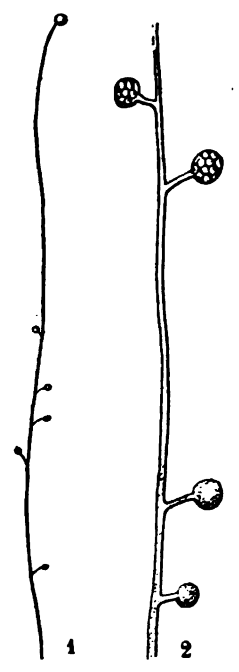


Fig. 6. — *Mucor racemosus* : 1, filament fructifère ramifié en grappe avec sporanges à l'extrémité de chacun des pédicelles secondaires ; 2, une partie du même filament à un plus fort grossissement (d'après Fresenius).

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Pédoncules sporangifères droits et dressés, compacts, formant un gazon brun jaunâtre, hauts de 5 à 40 mm., larges de 8 à 20 µ, souvent plus courts et très minces, abondamment mais irrégulièrement ramifiés en grappes dont les rameaux sont terminés par un sporange. Rameaux latéraux très variables, ordinairement courts, simples, droits ou incurvés faiblement vers le bas ; quelquefois ramifiés à leur tour en grappe secondaire ; souvent avec des cloisons transversales au-dessus de l'insertion avec le filament axial ; leur membrane est lisse et incolore ; leur contenu également incolore.

Sporanges petits, sphériques, de diamètre variant de 20 à 70 µ, dressés, quelques-uns courbés, d'une couleur jaune pâle ou jaune cire ou encore jaune brunâtre. Membrane sporangiale transparente, sans aiguilles cristallines, non diffluente mais s'ouvrant par déchirement en laissant un petit collier basilaire.

Columelle dressée, de forme variable, longue de 17 à 60 µ, large de 7 à 30 µ à sa partie inférieure et de 9 à 42 µ à son extrémité supérieure, à membrane lisse et incolore, à contenu incolore.

Spores sphériques ou légèrement ovoïdes, quelquefois avec des angles arrondis ; larges de 5 à 8 µ, longues de 6 à 10 µ ; lisses, incolores, jaunâtres en masses, faciles à observer par transparence de la membrane sporangiale.

Zygospores sphériques mesurant 70 à 80 µ, brunâtres, à membrane externe munie de protubérances coniques d'une couleur brune rouge ; leurs suspenseurs sont beaucoup plus minces, non renflés ; la germination n'a pas été observée. Azygospores très rares.

Chlamydospores toujours abondantes, aussi bien sur le mycélium que sur les pédoncules sporangifères et même dans la columelle : incolores ou jaunâtres, avec une membrane épaisse, lisse et incolore ; à contenu le plus souvent brillant ; de forme variable, tantôt sphériques, avec un diamètre de 20 μ, tantôt ellipsoïdes ou ovoïdes, parfois en forme de tonneau de 11 à 20 μ de large sur 20 à 30 μ de longueur ; elles germent en donnant du mycélium ou des pédoncules sporangifères.

Gemmes ou oïdies naissant sur le mycélium immergé dans les solutions sucrées dont elles déterminent la fermentation (Fig. 2).

Habitat. — Cette espèce est très répandue sur toutes les substances végétales en voie de décomposition (pain, débris végétaux, compotes, etc.) ainsi que sur les matières animales (viande, cadavres d'insectes, etc.). Signalée également comme parasite sur les animaux. Bollinger l'a observée dans l'appareil respiratoire chez les Oiseaux (1880) ; Zürn l'a rencontrée dans la cavité nasale d'un Mouton ; enfin Franck a isolé, d'une tumeur chez un Cheval, un Champignon qu'il a rapproché du *M. racemosus* (1890). Nous faisons les mêmes réserves à l'égard de son action pathogène, que celles apportées à propos de l'espèce précédente.

II. — **Rhizomucor** Lucet et Costantin, 1900 (1).

Mucorée à stolons et à rhizoïdes irréguliers, à pédoncules sporangifères ramifiés ; columelle entourée à la base par les débris de la membrane sporangiale, cette dernière s'insérant en haut du pédoncule (2).

Rhizomucor parasiticus

[Espèce découverte et étudiée par Lucet et Costantin en 1900]

Caractères morphologiques. — Mycélium gazonnant, bas, gris-souris, gris de plomb, puis brun fauve grisâtre, présentant des filaments rampants ou stolons.

Pédoncules sporangifères rapidement cutinisés de brun ; ils ont de 12 à 14 μ de large sur 1 à 2 cm. de long ; ils sont normalement ramifiés

(1) Lucet et Costantin, *Rhizomucor parasiticus*, espèce pathogène de l'Homme. *Revue générale de Botanique*, XII, p. 81, 1900.

(2) Etabli par Lucet et Costantin, le groupe du *Rhizomucor* a été regardé par ces auteurs comme une section nouvelle du genre *Mucor* établissant le passage au genre *Rhizopus* : il se différencie du premier par l'existence de filaments rampants et de rhizoïdes, et se sépare du second par la ramification des pédoncules sporangifères et par la forme de la columelle dont la partie inférieure n'est pas constituée par l'extrémité renflée du pédoncule. Le nom spécial de *Rhizomucor* a autorisé Gedoelst à donner à cette section la valeur d'un genre que nous conservons ici, sans vouloir discuter l'opportunité de cette création.

en grappe, quelquefois en corymbe, surtout vers la partie supérieure, sur une longueur qui ne dépasse guère 300 μ de long; ils sont munis à leur base, mais irrégulièrement, de rhizoïdes.

Sporanges hérissés de fines aiguilles cristallines, peu nombreuses quand ils sont jeunes; rapidement cutinisés de brun; leur diamètre varie entre 35 et 80 μ; leur membrane diffluente laisse subsister une très légère collerette à la base de la columelle.

Columelle ovoïde ou piriforme, cutinisée, brunâtre, même quand le reste du pédoncule ne l'est pas; elle a de 30 à 70 μ de haut sur 24 à 56 μ de large.

Pédoncules latéraux semblables, mais avec des sporanges plus petits; rarement ils sont ramifiés une seconde fois.

Spores rondes ou ovoïdes, à membrane délicate, mesurant 4 μ sur 2 μ 5.

Zygospores inconnues (pl. III, fig. 5 à 14).

CARACTÈRES BIOLOGIQUES. — La culture du *R. parasiticus* est facile, car il pousse sur des milieux très différents. Les plus favorables sont les substrata sucrés, neutres ou légèrement alcalins, ou acides, ou glycérinés, et ceux qui sont riches en fécule avec les mêmes réactions. Tous les bouillons, gélose ou gélatine, glyco-glycérinés ou lactosés, se comportent de même ainsi que l'eau de malt et l'eau de Levûre. La pomme de terre, tous les milieux qui en renferment, de même que les bouillons de choux et d'asperges donnent aussi de bons résultats. Les bouillons de peptone et les

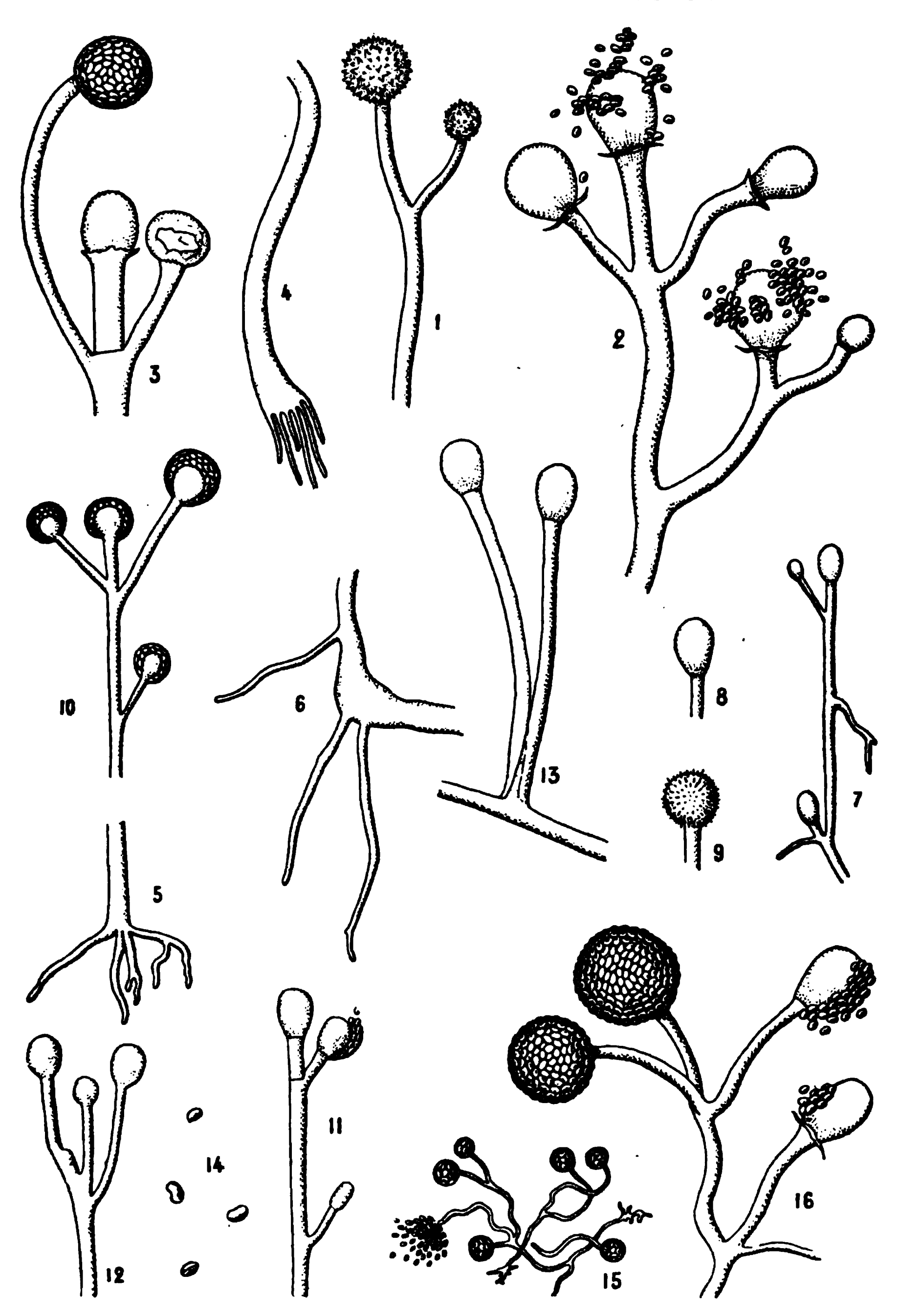
EXPLICATION DE LA PLANCHE III.

Mucor pusillus. — Fig. 1, filament fructifère avec sporange terminal et sporange latéral (× 330). — Fig. 2, ramifications d'un filament fructifère et sporanges après la déhiscence ; columelles et spores (× 470 d'après Lindt).

Mucor septatus. — Fig. 4, filament avec rhizoïdes (× 270). — Fig. 3, ramifications d'un filament fructifère avec sporanges, avant et après la déhiscence (× 270, d'après Siebenmann).

Rhizomucor parasiticus. — Fig. 5, 6, divers aspects des rhizoïdes. — Fig. 7, filament fructifère sur lequel naît un appendice rhizoïde. — Fig. 8, aspect d'une columelle. — Fig. 9, sporange jeune. — Fig. 10, 11, ramifications normales des filaments fructifères. — Fig. 12, ramifications moins fréquentes. — Fig. 13, deux filaments fructifères partant d'un même point. — Fig. 14, spores (d'après Lucet et Costantin).

Rhizopus Cohni. — Fig. 15, aspect d'une culture mûre âgée de 8 jours. — Fig. 16, filament fructifère avec sporanges, avant et après la déhiscence; columelles et spores (d'après Lichtheim).



Mucor pusillus Lindt. — *Rhizomucor septatus* Siebenmann. — *Rhizomucor parasiticus* Lucet et Costantin. — *Rhizopus Cohni* Lichtheim.

milieux fortement alcalins ou acides lui conviennent beaucoup moins. Enfin, le Champignon se développe mal sur tous les sérums coagulés, le blanc d'œuf, les poires ou pommes à cidre. Les cultures sur milieux solides s'obtiennent toujours avec plus de rapidité que sur les liquides.

La nature du substratum influe sur la récolte qui est surtout abondante sur les milieux sucrés, légèrement alcalins ou légèrement acides ou tout à fait neutres Elle est faible avec le liquide Raulin ordinaire, normalement acide, et augmente quand on remplace le sucre candi par de la glycose.

L'influence de la température est considérable. Le *R. parasiticus* ne pousse ni à 15° ni même à 20°. Il commence lentement à se développer à 22°. A partir de 25° et 26° la croissance est plus rapide. Il pousse bien à 33°-34° et en deux jours il envahit de ses fructifications toute la surface du substratum. Mais c'est surtout vers 38° et 40° que le développement atteint toute sa vigueur. A 50° sa croissance devient plus difficile; à 53° elle est encore plus lente et à 60° le Champignon ne pousse plus.

A 51°-52° les cultures sur milieux solides prennent des caractères très spéciaux : le mycélium reste blanc dans sa partie inférieure et ne prend une légère teinte grise que dans la région supérieure où se localise la fructification. A 55°-56° la nuance grise s'atténue de plus en plus tandis que la nuance blanche s'étend en conséquence. A ces températures élevées on remarque donc que l'atténuation de la puissance reproductrice s'accompagne d'un accroissement de la puissance végétative.

Une aération large et continue permet seule d'obtenir une culture abondante. Si on fait le vide on obtient surtout du mycélium; les sporanges sont rares et chétifs et ne renferment que peu de spores.

Habitat. — Cette espèce a été observée par Lucet et Costantin chez une Femme atteinte d'une affection des voies respiratoires. Elle est pathogène pour le Lapin, le Cobaye et la Poule, quand on l'injecte dans les veines ou dans le péritoine, mais elle est sans action sur le Chien.

Les mêmes auteurs ont retrouvé une race très voisine du *R. parasiticus* en mettant en culture des poussières prélevées sur les poils d'une Vache teigneuse; il y a donc lieu de supposer que le parasite possède une existence saprophytique normale.

RHIZOMUCOR SEPTATUS (?)

[Découvert par Siebenmann et décrit par Bezold en 1889 (1)]

Synon. : ***Mucor septatus*** Bezold.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Mycélium incolore. Pédoncules sporangifères d'une couleur brune, ramifiés en grappe, parfois terminés par une ombelle, et présentant à leur base de petits rhizoïdes, leur diamètre moyen est de 10 µ ; les pédicelles secondaires, au nombre de 3 ou 4, sont courts avec des cloisons transversales aux points de ramification. Sporanges d'un brun grisâtre pâle, sphériques, à membrane transparente, lisse ou légèrement mamelonnée, d'un diamètre de 32 µ. Columelle également brune, sphérique ou faiblement ovoïde, d'un diamètre moyen de 27 µ. Spores sphériques ou ovales, lisses, d'une couleur jaune clair ou brunâtre, elles mesurent 2 µ 5 à 4 µ (pl. III, fig. 3 et 4).

HABITAT : Cette espèce a été rencontrée par Siebenmann dans un conduit auditif externe. La description qu'il en a donnée est certainement incomplète; aucune culture n'a été faite. D'après Fischer, elle serait identique au *M. racemosus*, mais il faut reconnaître que la figure donnée par l'auteur ressemble bien plus au *M. bifidus* représenté par Fresenius. La présence de rhizoïdes et la ramification des pédoncules sporangifères ont permis à Lucet et Costantin de ranger cette espèce à côté de leur *R. parasiticus*.

III. — **Rhizopus** Ehrenberg, 1820.

Mycélium composé de deux parties, une petite à l'intérieur du substratum et provenant de la germination des spores, une partie principale plus considérable, aérienne, rampant sur ce substratum et formée de filaments ou stolons à croissance indéfinie, divisés en internœuds non ramifiés et en nœuds portant des rhizoïdes. Mycélium aérien, d'abord blanc de neige, plus tard gris noirâtre, avec des rhizoïdes noirs, à contenu incolore. Pédoncules sporangifères rarement isolés, le plus souvent réunis en faisceaux, ne naissant qu'aux nœuds et s'élevant en divergeant, simples ou ramifiés, élargis à leur extrémité en une apophyse qui se continue par le sporange ; d'abord blancs, plus tard bruns ou noirâtres. Sporanges tous identiques, hémisphériques ou subsphériques, polysporés, droits ou obliques, s'ouvrant au sommet des pédoncules. Membrane sporangiale non cuticularisée, uniformément incrustée, diffluente sans collerette basilaire. Columelle largement étalée, hémisphérique, formant avec l'apophyse, après la déhiscence du sporange, un ensemble ayant l'aspect d'une large

(1) F. SIEBENMANN, *Die Schimmelmycosen*, p. 97. Wiesbaden, 1889.

massue, souvent déprimée comme un chapeau de champignon et recouverte pendant longtemps par des spores. Spores globuleuses ou ovoïdes, colorées ou non, à membrane lisse ou ornée par des bandelettes ou des piquants. Zygospores nues à l'intérieur du substratum et sur les stolons ; suspenseurs très larges et sans prolongements ; filaments copulateurs droits ; germination inconnue.

RHIZOPUS COHNI

[Découvert par Lichtheim en 1884 (1) ; décrit par Cohn ; nommé par Berlese et de Toni (2)]

Synon. : *Mucor rhizopodiformis* Cohn et Lichtheim, 1884.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Mycélium d'abord blanc neigeux, puis gris souris, enveloppant complètement et rampant en dehors du substratum. Filaments mycéliens à parois lisses, brunâtres, pouvant se développer à la manière des stolons : ils se soulèvent en forme d'arcs, s'infléchissent vers le substratum et présentent aux points de contact des petites touffes de rhizoïdes brunâtres, ramifiés, et de petits pédoncules dressés et effilés.

Pédoncules sporangifères, droits ou arqués à la base, isolés ou fasciculés à la partie supérieure des rhizoïdes ; ils sont courts (120 à 125 μ de hauteur), simples, exceptionnellement ramifiés en fourche ; à parois lisses, brunâtres ; à contenu incolore ; élargis à leur extrémité en forme d'apophyse.

Sporanges sphériques, d'abord d'une couleur blanche qui devient noire à la maturité ; leur membrane est opaque, diffluente en totalité, d'apparence lisse mais très finement incrustée ; leur diamètre moyen est de 66 μ, il varie de 60 à 110 μ.

Columelle ovoïde ou piriforme, nettement tronquée à la base ; reliée au pédoncule par une large apophyse ; à membrane lisse, brunâtre ; d'une largeur moyenne de 50 à 75 μ.

Spores généralement sphériques, jamais anguleuses, à parois lisses, incolores, très petites, d'un diamètre de 5 à 6 μ.

Zygospores inconnues (pl. III, fig. 15 et 16).

CARACTÈRES BIOLOGIQUES. — D'une façon générale, cette espèce se comporte comme le *Mucor corymbifer* et pousse sur les mêmes milieux.

La température la plus favorable au développement est encore celle de 37° à 38°. Moins de 48 heures après l'ensemencement, les sporanges apparaissent déjà et la culture, qui était blanche au début, prend alors une coloration grise. A la température ordinaire

(1) L. LICHTHEIM, *Loc. cit.*
(2) *Sylloge fungorum* de SACCARDO : VII, p. 213, 1888.

(12° à 15°) les spores ne commencent à germer qu'au troisième jour et ce n'est que du quatrième au cinquième jour qu'on peut constater la formation des sporanges. A partir de 45° le mycélium est arrêté dans sa croissance et à 68° les spores perdent complètement leurs propriétés germinatrices.

Habitat. — Le *R. Cohni* a été rencontré sur du pain mouillé, en même temps que le *M. corymbifer*, par Lichtheim dans son laboratoire de Berne. D'après cet auteur, il serait assez répandu car il l'obtenait aussi régulièrement et avec la même facilité que l'*Aspergillus fumigatus*. Expérimenté sur le Lapin, il se montre très pathogène à l'égard de cet animal quand il est injecté dans les veines ou dans le péritoine. C'est en vain que Ziegenhorn a essayé de modifier la virulence extrême de ses spores (1886).

Rhizopus nigricans Ehrenberg, 1818-1820.

Synon. : *Ascophora mucedo* Tode, 1790 ; *Mucor stolonifer* Ehrenberg, 1818.

Caractères morphologiques. — Filaments mycéliens rampants (stolons), recouvrant d'un tissu serré le substratum et ses abords, envahissant les vases de culture, à entrenœuds mesurant de à 1 à 3 cm. et plus ; simples ou irrégulièrement ramifiés, à membrane lisse, d'abord incolore puis brune ; à contenu incolore. Rhizoïdes plus ou moins ramifiés, à membrane épaisse, lisse ; incolores au début puis brun-noirâtre ; les plus gros ont une épaisseur de 16 μ qui se réduit à 5 μ à leur extrémité ; présentent quelquefois des cloisons transversales éparses.

Pédoncules sporangifères rarement isolés, le plus souvent fasciculés par 3 à 5, rarement 10, dressés, non ramifiés, mesurant de 0,5 à 4 mm. de hauteur ; de 24 à 42 μ d'épaisseur ; à membrane lisse, brune ou brun noir ; à contenu incolore. Apophyse en forme de massue large.

Sporanges hémisphériques, volumineux, larges de 100 à 350 μ, dressés, d'abord blanc de neige, noirs à la maturité.

Columelles larges, très grandes, hémisphériques, constituant avec l'apophyse un ensemble cubique à angles arrondis qui s'affaisse souvent à la suite de la déhiscence du sporange et prend l'aspect d'un chapeau de Champignon ; atteignant presque le sommet du sporange ; mesurant avec l'apophyse de 70 à 250 μ de large sur 90 à 320 μ de haut ; à membrane lisse, brune, fréquemment recouverte par les spores qui y adhèrent.

Spores irrégulièrement rondes ou ovales, de grosseur variable, d'un diamètre de 6 à 17 μ, à membrane épaisse pourvue d'épaississements, d'une couleur légèrement gris pâle, à contenu incolore.

Zygospores sphériques ou en forme de tonneau, mesurant 160 à 220 μ de diamètre ; à exospore brune noire, opaque, avec des proéminences à sa

surface ; à endospore incolore. Suspenseurs ditatés, généralement inégaux, presque aussi larges que la zygospore. Des azygospores ont été observées. Germination inconnue. Les chlamydospores et les oïdies n'ont jamais été vues (Fig. 1-2).

HABITAT. — Cette espèce est très commune sur les matières organiques d'origine végétale ; elle constitue des revêtements épais, larges et noirâtres ; on la rencontre fréquemment sur le pain, les gâteaux, les fruits, les plantes, etc., c'est dire qu'elle préfère les aliments hydrocarbonés. Elle végète peu, au contraire, sur les substances animales.

Le *R. nigricans* n'a jamais été observé sur les animaux et sur l'Homme. En revanche Neumann (1892) et surtout Artault (1893) le considèrent comme un hôte assez fréquent de l'œuf de Poule. Les expériences de Stange (1892) prouveraient que cette espèce peut jouer un rôle pathogène ; nous croyons au contraire, d'après nos expériences personnelles, que sa virulence doit être regardée comme nulle.

RHIZOPUS NIGER (?)

[Espèce isolée par Ciaglinski et Hewelke sous le nom de *Mucor niger* (1)]

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Filaments mycéliens rampants (stolons) pourvus de nombreux rhizoïdes, formant une couche blanc de neige. Pédoncules sporangifères dressés, droits, fasciculés, terminés par des sporanges sphériques d'une couleur noire à la maturité. Columelle d'abord cylindrique, 2 à 3 fois plus longue que large, s'élargissant plus tard et présentant à la maturité l'aspect d'une calotte sphérique ; s'affaissant après la déhiscence du sporange et prenant alors la forme d'une ombrelle ouverte. Spores ovales, lisses, d'une couleur grise, noire lorsqu'on les voit en masses (Fig. 7).

La description sommaire que nous rapportons est par trop incomplète et il est possible que cette espèce constitue une simple variété du *R. nigricans*.

HABITAT. — Rencontré dans un cas de « Langue noire » à l'état de filaments dont quelques-uns se terminaient par des renflements recouverts de spores nombreuses. La culture fut obtenue facilement sur pomme de terre et sur bouillie de pain gélatinée. Le développement a lieu de préférence à la température ordinaire et surtout

(1) CIAGLINSKI et HEWELKE, Ueber die sogenannte schwarze Zunge. *Zeitsch. f. klin. Medec.*, XXII, p. 626, 1893.

à 25° et 27° ; il est empêché au contraire par une température de 37°. Les auteurs ont essayé de déterminer son action pathogène sur le Lapin : le résultat a été négatif.

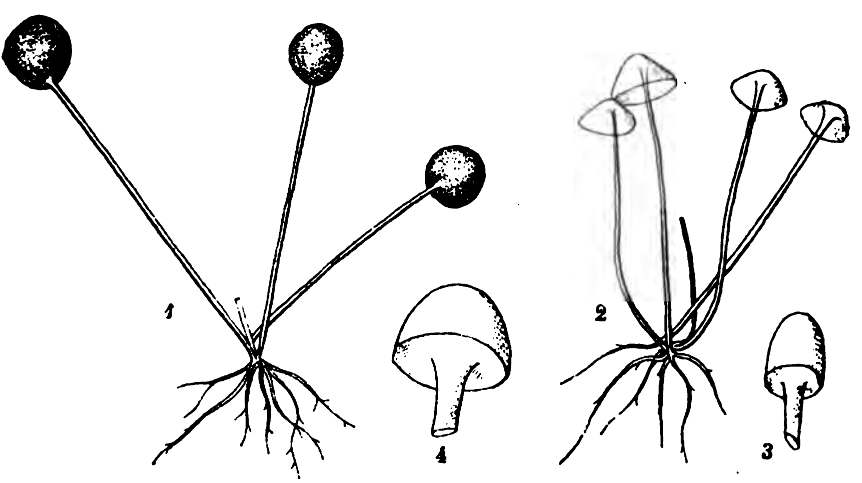


Fig. 7. — *Rhizopus niger* : 1, nœud avec rhizoïdes et faisceaux de filaments fructifères dont les sporanges sont mûrs; 2, filaments fructifères après la déhiscence des sporanges; 3, aspect d'une columelle jeune; 4, columelle à la maturité (d'après Ciaglinski).

On peut admettre que cette espèce a été retrouvée par Sendziak (1894) dans deux autres cas de « langue noire », car il n'y a pas à tenir compte de la légère différence, accusée par cet auteur, dans la coloration des sporanges observés.

IV. — **Mortierella** Coemans, 1863.

Mycélium répandu à l'intérieur mais surtout à la surface du substratum où il forme un tissu aérien filamenteux; abondamment ramifié et émettant des rameaux grêles qui s'anastomosent avec les rameaux voisins et forment ainsi un réseau de filaments à mailles plus ou moins serrées; unicellulaire; généralement incolore; à membrane lisse. Pédoncules sporangifères isolés ou en faisceaux, munis ou non de pédicelles fixateurs, élargis à la base, le plus souvent incolores, simples ou ramifiés de diverses façons, tous les rameaux secondaires se terminant par des sporanges. Sporanges tous semblables, ordinairement polysporés, quelquefois oligosporés, dressés, blancs ou jaunâtres et s'ouvrant sur le pédoncule. Membrane sporangiale incolore, lisse, délicate, sans incrustations cristallines, très diffluente, laissant une collerette basilaire infléchie. *Absence totale de columelle* : la cloison transversale qui sépare le pédoncule du sporange

est plane ou faiblement bombée. Spores sphériques ou elliptiques, plus rarement fusiformes ou polygonales à angles émoussés, généralement très inégales, incolores, lisses et renfermant ordinairement à leur intérieur des gouttelettes graisseuses. Zygosgores sur le mycélium, sphériques, à membrane unique mais épaisse, entourées d'une enveloppe fermée (carpospore) constituée par des filaments mycéliens entrelacés provenant des suspenseurs ; filaments copulateurs semblables et se réunissant à la façon des deux branches de tenailles. Conidies mycéliennes (stylospores) fréquentes sur le mycélium aérien, sphériques, à membrane échinulée, isolées à l'extrémité de pédicelles courts. Chlamydospores se formant sur le mycélium, de préférence à l'intérieur du substratum, de forme variable, incolores, à parois lisses, terminales ou intercalaires.

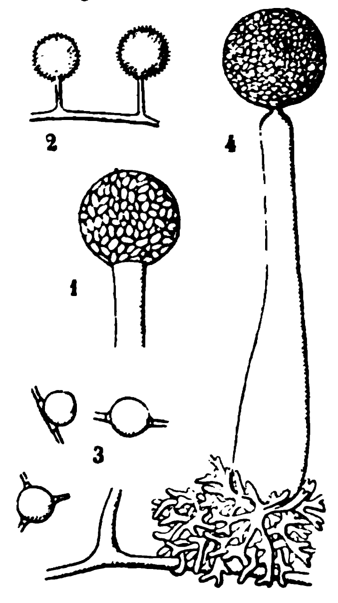


Fig. 8. — *Mortierella tuberosa* : 1, sporange sans columelle ; 2, conidies (stylospores) avec membrane échinulée ; 3, chlamydospores sur filaments mycéliens. — *M. strangulata* : 4, Pédoncule sporangifère complet (d'après Van Tieghem).

La bibliographie ne comporte actuellement qu'un seul cas de mycose, observé chez un Chat par Neumann, où une *Mortierella* a été incriminée par Costantin (1892). Cette détermination doit être acceptée avec réserve car elle repose exclusivement sur la présence de spores échinulées. Jusqu'à nouvel ordre l'importance pathogène des *Mortierella* peut donc être considérée comme négligeable.

BIBLIOGRAPHIE BOTANIQUE.

P. A. Micheli, *Nova plantarum genera*. Florentiae, 1729.

C. Linné, *Species plantarum*, II. Vindobonae, 1764.

H. J. Tode, *Fungi mecklenburgenses selecti*. Luneburgi, 1790-1791.

Id., *Pilobolus crystallinus. Schrift. d. Gesellsch. naturf. Freunde zu Berlin*, 1784.

H. Linck, Species Hyphomycetum et Gymnomycetum. *Linné Spec. plant. plant. cur. Wildenowi*, VI, 1824.

F. Cohn, Die Entwicklungsgeschichte des *Pilobolus crystallinus*. *Nova Acta Acad. Lopold.*, XXIII, 1852.

G. Fresenisus, *Beiträge zur Mykologie*. Frankfurt, 1850-1863.

E. Coemans, Monographie du genre *Pilobolus*. *Mémoires de l'Acad. royale de Belgique*, 1861.

Id., Recherches sur le polymorphisme et différents appareils de reproduction chez les Mucorinées. *Mémoires de l'Acad. royale de Belgique*, 1862.

Id., Quelques Hyphomycètes nouveaux. *Ibidem*, 1862.

A. de Bary, *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze*, IV, 1864.

A. de Bary und M. Woronin, *Zur Kenntnis der Mucorineen*. 1866.

H. Hoffmann, *Icones analyticae fungorum*, IV, 1865.

L. R. Tulasne, Note sur les phénomènes de copulation. *Annales des sciences naturelles, Botanique*, (5), VI, 1867.

O. E. R. Zimmermann, *Das genus Mucor*. Chemnitz, 1871.

O. Brefeld, *Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze*. Leipzig. I, 1872, et IV, 1881.

Id., Ueber copulierende Pilze. *Berichte der naturf. Freunde zu Berlin*, 1875.

Id., Ueber die Entwickelung von *Mortierella*. *Ibid.*, 1876.

Id., Ueber Gährung. *Landwirtsch. Jahrb.*, V, 1876.

Id., *Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie*, IX. Münster i. W. 1891.

J. Klein, Zur Kenntnis des *Pilobolus*. *Jahrb. f. wissensch. Botanik*, VIII, 1872.

P. Van Tieghem et G. Le Monnier, Recherches sur les Mucorinées. *Annales des sciences naturelles, Botanique*, (5), XVII, 1873.

P. Van Tieghem, Nouvelles recherches sur les Mucorinées. *Ibidem*, (6), I, 1875.

Id., Troisième mémoire sur les Mucorinées. *Ibidem*, (6), IV, 1876.

A. Gilkinet, Mémoire sur le polymorphisme des Champignons. *Mémoires de l'Académie royale de Belgique*, XXVI, 1875.

D. D. Cunningham, On the occurrence of conidial Fructification in the Mucorini. *Transact. of the Linn. Soc. of London, Botany*, I, 1878.

U. Gayon, Faits pour servir à l'histoire physiologique des Moisissures. *Mémoires de la Société des sciences de Bordeaux*. 1878.

G. Bainier, *Étude sur les Mucorinées*. Thèse de Pharmacie, Paris, 1882.

Id., Sur les zygospores des Mucorinées. *Annales des sciences naturelles, Botanique*, (6), XVIII, 1883.

Id., Nouvelles observations sur les zygospores des Mucorinées. *Ibidem*, (6), XIV, 1884.

Id., Des espèces nouvelles de Mucorinées. *Bulletin de la Société botanique de France*, XXVII, 1880.

L. Lichtheim, Ueber pathogene Mucorineen, *Zeitschrift für klin. Medicin*. VII, 1884.

P. Vuillemin, Etude biologique sur les Champignons. *Bulletin de la Soc. bot. de Nancy*, VIII, 1886.

W. Lindt, *Mittheilungen über einige neue pathogene Schimmelpilze.* Inaug. Diss., Leipzig, 1886.

J. Schröter, *Die Pilze Schlesiens, Mucorineae.* Breslau, 1886.

Id., Ueber die auf Hutpilzen vorkommenden Mucorineen. *Jahresb. der Schles. Gesellsch. f. vaterl. Cultur.* 1886.

Id. Mucorineae : *Die natürlichen Pflanzenfamilien* Engler's und Prantl's. I, 1. Leipzig, 1897.

U. Gayon et E. Dubourg, De la fermentation de la dextrine et de l'amidon par les Mucors. *Annales de l'Institut Pasteur*, I, 1887.

A. N. Berlese et J. B. de Toni, Phycomyceteae: *Sylloge Fungorum* de P. A. Saccardo, VII. Patavii, 1888.

W. Zopf, *Die Pilze.* Breslau, 1890.

P. Van Tieghem, *Traité de botanique.* II, Paris, 1891.

A. de Wèvre, Le noyau des Mucorinées. *Bulletin de la Soc. botanique de Belgique*, XXX, 1891.

A. Fischer, Phycomycetes : *Kryptogamen-Flora* L. Rabenhorst's, I, 4. Leipzig, 1892.

P. A. Dangeard et M. Léger, Recherches sur la structure des Mucorinées. *C. R. de l'Acad. des sciences*, CXVIII, 1894.

Id., La reproduction sexuelle des Mucorinées. *Ibidem*, 1894.

M. Léger, Recherches histologiques sur le développement des Mucorinées. *Ibidem*, CXX. 1895.

Id., *Recherches sur la structure des Mucorinées.* Thèse de la Fac. des sciences. Paris, 1895.

L. Mangin, Observations sur la membrane des Mucorinées. *Journal de botanique*, XIII, 1899.

L. Matruchot, Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée. *Revue générale de botanique*, XII, 1900.

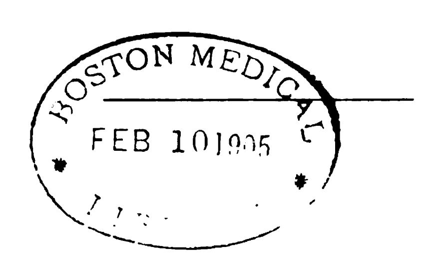
C. Wehmer, Die « Chinesische Hefe » und der sogenannte *Amylomyces* (*Mucor Rouxi*). *Centralblatt für Bakteriol.*, (2), VI, 1900.

Id., Der javanische Ragi (*Mucor javanicus*). *Ibidem*, 1900.

Lucet et Costantin, *Rhizomucor parasiticus. Revue générale de botanique*, XII, 1900.

Id., Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, IV, 1901.

T. Chrzaszcz, Die « Chinesische Hefe » (*Mucor cambodja* et *M. Rouxi*). *Centralblatt für Bakteriol.*, (2), VII, 1901.



DEUXIÈME PARTIE

MUCORMYCOSES SPONTANÉES

Historique

I. **Les Mucorinées chez les animaux.** — Dans notre introduction nous avons rappelé que c'est à Mayer (1) qu'il faut attribuer la première observation relative à des Moisissures se développant chez les animaux; il les trouva, avec Emert, dans les poumons d'un Geai (*Corvus glandularius*). Dans l'analyse qu'en donne Ch. Robin (2), cet auteur compare ces Champignons à un *Mucor*.

En 1821, Heusinger (3), en disséquant une Cigogne (*Ciconia*), peu d'heures après sa mort, remarqua que la face interne des sacs aériens, très épaissie, se laissait diviser en lamelles dont la plus interne était couverte de Moisissures (*Mucedo*) longues et épaisses. Dans les sacs aériens, non altérés, on voyait çà et là de très petits points blancs.

Hannover (4), en 1842, raconte que Reinhardt lui a dit avoir rencontré un *Mucor* sur la face interne des poumons d'une Oie sauvage (*Anser segetum*); ultérieurement il retrouva la même végétation sur un Pingouin (*Alca torda*) et sur un jeune Cormoran noir (*Cormoranus carbo*).

En 1867, Hoffmann (5) constata que les Poissons de l'aquarium du Jardin botanique de Giessen mouraient sous l'influence du *Mucor mucedo* et d'une *Saprolegnia*. Il réussit non seulement à isoler, des téguments et des muscles, les filaments mycéliens appartenant à ces deux Champignons, mais encore, par inoculation avec le *Mucor*

(1) A.-C. Mayer, Verfschimmelung (Mucedo) im lebenden Körper. *Meckel's Deutsches Archiv für die Physiologie*, I, p. 310, 1815.

(2) Ch. Robin, *Des végétaux qui croissent sur les animaux vivants*. Thèse de la Fac. des sciences, Paris, 1847.

(3) C.-F. Heusinger, *De generatione mucoris in organismo animali vivente*. Iéna, 1821.

(4) A. Hannover, Ueber Entophyten auf den Schleimhaüten des todten und lebenden menschlichen Körpers. *Müller's Archiv für Anat. u. Physiologie*, p. 281, 1842.

(5) H. Hoffmann, Ueber *Saprolegnia* und *Mucor*. *Botan. Zeitung*, XXV, p. 345, 1867.

mucedo cultivé, il provoqua chez une Carpe (*Cyprinus amarus*) une affection mortelle. Nous croyons donc que c'est à Hoffmann qu'il faut rapporter le premier essai d'expérimentation au moyen d'une Mucorinée. Cette tentative est passée inaperçue.

La même année, Bail (1) prétendit qu'il avait inoculé le *M. racemosus* à des Mouches qui succombaient au bout de très peu de temps, en présentant des mouvements tétaniques des ailes et des jambes ?

En 1880, Bollinger (2) a examiné 15 cas de mycose de l'appareil respiratoire chez divers Oiseaux (Pigeons, Poules, Pinsons, etc.). Les Moisissures, qui étaient localisées dans la trachée, les bronches, les sacs aériens et le tissu pulmonaire lui-même, furent déterminées par le Dr Hartz. Dans plusieurs cas il s'agissait du *Mucor racemosus* et du *M. conoideus* (?).

Rivolta (3), en 1885, a donné le nom de *Mucorimyces canis familiaris* à un Champignon qu'il a trouvé chez une Chienne morte dans le marasme. Les reins, les poumons, la rate et la corne gauche de l'utérus étaient envahis par des sarcomes encéphaloïdes renfermant des filaments mycéliens entrelacés avec des spores placées bout à bout. Il est probable que si l'auteur avait fait une culture de ce parasite il aurait spontanément supprimé le nom arbitraire de *Mucorymices* qu'il lui a attribué.

En 1887, Hess (4) signala l'action nocive du *Mucor mucedo* sur les Abeilles. Cette espèce occasionnerait chez ces Insectes la « maladie de mai » ou « mucorine », affection qui entraîne fréquemment leur mort. Il rencontra aussi comme parasite de ces animaux le *Mucor mellitophthorus*, dont l'importance est moindre.

Zürn et Plaut (5) citent, comme parasites des animaux, le *Mucor mucedo*, le *M. racemosus*, le *M. corymbifer* et le *Rhizopus Cohni*. Ils croient, ainsi que Friedberger et Fröhner (6) d'ailleurs, que les

(1) BAIL, Ueber Krankheiten erzeugende Pilze. *Wiener medizin. Wochenschrift* n° 63, p. 992, 1867.

(2) O. BOLLINGER, Ueber Pilzkrankheiten niederer und höherer Thiere. *Aerztliches Intelligenz-Blatt*, n°s 9 et 11, 1880.

(3) S. RIVOLTA, Mucorimyces canis familiaris. *Giornale di anat., fisiol. e patol. degli animali*, 1885.

(4) HESS, *Die Feinde der Biene in Thier und Pflanzenreiche*. Hannover, 1887. Ref. in *Centralb. f. Bakt. u. Parasitenk.*, II, p. 190, 1887.

(5) A. ZÜRN und H. PLAUT, *Die pflanzlichen Parasiten auf und in dem Körper unserer Haussäugetiere*. Weimar, 1889.

(6) F. FRIEDBERGER und E. FRÖHNER, *Pathologie und Therapie der Hausthiere*. Stuttgart, 1892.

aliments recouverts par ces Moisissures peuvent déterminer des gastro-entérites.

D'après les mêmes auteurs, Kühn a observé chez des animaux, élevés chez lui, une épidémie de péripneumonie qu'il attribua à du foin altéré par des Moisissures, parmi lesquelles les Mucorinées n'étaient pas rares.

Zürn a également noté la présence des spores du *M. racemosus* dans les mucosités nasales d'un Mouton.

Frank (1), en 1890, remarqua, au bord supérieur de l'encolure d'un Cheval, une tumeur glanduleuse, pédiculée, polypoïde, se reformant sans cesse après son écrasement par le collier. Cette tumeur était exclusivement constituée par un mycélium assez volumineux et par des conidies globuleuses situées à la périphérie. Il rapprocha ce Champignon du *Mucor racemosus* et expliqua sa présence en admettant que les spores sont apportées accidentellement en un point accessible et blessé de l'encolure où elles se développent en produisant cette pseudo-tumeur.

Costantin (2), en 1892, publia un cas de pneumomycose observé sur un Chat par Neumann, qui lui avait communiqué trois préparations très intéressantes faites avec une Moisissure rencontrée dans la trachée de l'animal dont elle avait causé la mort en déterminant l'asphyxie. L'examen de ces préparations lui révéla l'existence de filaments non cloisonnés et celle de deux sortes de spores; les unes grosses, rondes, à parois épaisses et échinulées, furent considérées par l'auteur comme des chlamydospores de *Mortierella*. L'auteur ajoute que vraisemblablement il s'agissait ici d'une nouvelle espèce, car les *Mortierella* ordinaires ne se développent guère à la haute température qui existe dans le corps d'un Chat. Les autres spores, beaucoup plus petites, à parois lisses, ne furent pas déterminées. L'association de ces deux Moisissures contribua-t-elle, seule, à provoquer la mort de l'animal? C'est un point qui reste encore à élucider.

Dans ses recherches sur les agents d'infection de l'œuf de Poule, Artault (3), en 1892, a reconnu que 20 pour 100 des œufs tachés

(1) Frank, Eine mykotische Neubildung am Widerrist des Pferdes. *Wochenschr. f. Thierheilk. u. Viehzucht.*, n° 2, 1890.

(2) J. Costantin, Note sur un cas de pneumomycose observé sur un Chat par M. Neumann. *Bulletin de la Soc. mycol. de France*, VIII, p. 57, 1892.

(3) S. Artault, *Recherches bactériologiques, mycologiques, zoologiques et médicales sur l'œuf de Poule*. Thèse de Paris, 1893.

devaient cette altération à un *Mucor*. Il a constaté que presque toutes les fois où il abandonnait des œufs à la chambre humide, il se développait des houppes blanches de *Mucor* à l'intérieur de la chambre à air. Une des formes les plus communes semblait être le *Rhizopus nigricans*, dont la présence avait été mentionnée, sous réserve, précédemment par Neumann (1); des tentatives de culture restèrent infructueuses. Il observa une seule fois la présence du *Thamnidium elegans*.

Au sujet des œufs de Poule, des essais de contamination, au moyen des spores du *Mucor mucedo* et du *Rhizopus nigricans*, avaient déjà été tentés par Mosler (2) en 1864. Cette tentative resta sans grand succès.

II. Les Mucorinées chez l'Homme. — La présence d'un *Mucor* n'a été signalée chez l'Homme qu'en 1847 par Sluyter (3). Cet auteur rapporte une observation de Baum, Litzmann et Eichstedt qui auraient rencontré ce Champignon dans une caverne pulmonaire chez une femme morte de gangrène du poumon ; il consulta Schœner sur la nature du parasite et celui-ci lui confirma que c'était sans aucun doute le *Mucor mucedo*. Ch. Robin (4) fait remarquer que la figure assez incomplète donnée par Sluyter ressemble beaucoup plus à un *Aspergillus* qu'à un *Mucor*.

Un second cas, plus probant, fut publié en 1855 par Küchenmeister (5). Il étudia un Champignon trouvé par Hasse dans un cancer du poumon et il paraît bien que la Moississure était un *Mucor*, car le dessin figuré par l'auteur représente un sporange avec un mycélium non cloisonné.

En 1864, dans ses recherches sur le parasite du mycétome ou « pied de Madura », J. Berkeley (6) attribua cette affection à un Champignon auquel il donna le nom de *Chionyphe Carteri* et qu'il

(1) L. Neumann, *Traité des maladies parasitaires non microbiennes des animaux domestiques*. Paris, p. 749, 1892.

(2) Fr. Mosler, Mykologische Studien am Hühnerei. *Virchow's Archiv*, XXIX, p. 510, 1864.

(3) Sluyter, *De vegetabilibus organismi animalis parasitis, etc.* Inaug. Diss., Berlin, 1847.

(4) Ch. Robin, *Histoire naturelle des végétaux parasites*. Paris, 1853.

(5) F. Küchenmeister, *Die in und an dem Körper des lebenden Menschen vorkommenden Parasiten*. Leipzig, 1855.

(6) J. Berkeley, *Journal of the Linnean Society*, VIII, 1864.

considéra comme une Mucorinée. Cette opinion partagée, en partie, par Lewis et Cunningham (1), a été infirmée par le travail de Vincent (2) sur le même sujet.

Nous rappelons pour mémoire que l'un des cas cités par Cohnheim (3) en 1865, a été rapporté par quelques auteurs à une Mucorinée. La description trop sommaire du parasite et l'aspect cloisonné des filaments mycéliens doivent faire abandonner cette interprétation.

A partir de 1866, Hallier (4), dans ses communications successives sur les parasites de l'Homme, signala à plusieurs reprises la présence de certaines espèces de *Mucor*, entre autres le *M. scarlatinosus*, sans insister cependant sur leur rôle pathogène.

En 1874, Hiller (5) observa un cas d'onychomycose, chez un jeune soldat atteint successivement à l'index de la main droite et au pouce de la main gauche. Après incision, le pus qui s'écoula des deux abcès, montra, au microscope, un mycélium ramifié, non cloisonné, avec de nombreux sporanges sphériques remplis de petites spores. Le Champignon fut regardé comme étant le *Mucor mucedo* que le malade se serait inoculé à la suite de lésions cutanées.

En 1876, Fürbringer (6) fit connaître deux nouveaux cas de mycose mucorienne. Dans le premier cas il s'agissait d'un malade, mort d'un cancer généralisé, dont le poumon droit présentait des infarctus hémorrhagiques renfermant des filaments mycéliens avec des sporanges.

Chez le second malade, très cachectique, affecté d'emphysème pulmonaire et de gastro-entérite chronique, Fürbringer remarqua à l'autopsie, et au sommet de chacun des poumons, un infarctus du volume d'une noix. Derrière l'infarctus situé dans le sommet gauche, il existait un nodule analogue entouré par une zone infiltrée et hépatisée qui, seule, contenait du mycélium.

(1) Lewis et Cunningham, The Fungus Disease of India. Calcutta, 1875.

(2) H. Vincent, *Annales de l'Institut Pasteur*, VIII, 1894.

(3) Cohnheim, Zwei Fälle von Mycosis der Lungen. *Virchow's Archiv*, XXXIII, p. 167, 1865.

(4) E. Hallier, *Die pflanzlichen Parasiten des menschlichen Körpers*. Leipzig, 1866.

(5) A. Hiller, Ein acute Pilzinvasion in das Statum mucosum der Haut, ausgehend von einer Onychomycosis. *Berlin. Klinis. Wochensch.*, n° 20, 1874.

(6) P. Fürbringer, Beobachtungen über Lugenmykose beim Menschen. *Virchow's Archiv*, LXVI, p. 330, 1876.

Dans ces deux observations le Champignon présentait les mêmes caractères, sauf que dans la seconde les sporanges paraissaient généralement à un état plus jeune. L'auteur considéra les deux parasites comme étant le *Mucor mucedo*, mais il ajoute que leur aspect ressemble à celui du *M. circinelloïdes*. Ne serait-ce pas plutôt le *M. corymbifer*, ainsi que le présume Lindt ?

A côté de tous ces cas où il n'apparaît pas que la Moisissure soit la cause directe des lésions, il convient de citer celui que Paltauf (1) a publié en 1885. Son observation, très-importante et très démonstrative, concerne un cas de mucormycose primitive et généralisée, ayant déterminé la mort.

Le malade était un Homme de 52 ans, qui succomba après avoir présenté tous les symptômes d'une maladie infectieuse. A l'examen histologique, Paltauf trouva des masses de filaments mycéliens dans le pus d'abcès du pharynx et du larynx, ainsi que dans les lésions du cerveau, du poumon et de l'intestin ; il isola même des sporanges, qui étaient rares il est vrai. En l'absence de toute culture, aucune détermination botanique exacte ne put être faite, mais l'auteur pense qu'il s'agissait du *Mucor corymbifer*.

En 1886, Bostroem (2) montra des préparations de poumons tuberculeux qui provenaient d'une malade âgée de 50 ans. On remarquait la présence simultanée d'un *Aspergillus* et d'une Mucorinée.

En 1887, Ceci (3) publia et discuta un cas de mycose mucorienne développée sur un ostéochondrome de la main. L'auteur considéra cette affection comme analogue au « pied de Madura » et il isola, des tissus atteints, un Champignon qui ressemblait au *Rhizopus nigricans*. Il crut même reconnaître le « *Chionyphe Carteri* » de Berkeley. L'année suivante, Bassini (4) rapporta une observation semblable concernant une tumeur granuleuse du pied.

(1) A. Paltauf, Mycosis mucorina. *Virchow's Archiv*, CII, p. 543, 1885.

(2) Bostroem, Demonstration mikroscopischer Präparate von Schimmelpilzen. *Berliner klinische Wochenschrift*, p. 332, 1886.

(3) A. Ceci, *Mucormicosi in mano affeta da osteochondroma (mano di Madura)*, Genova, 1887. Ref. in *Baumgarten's Jahresbericht*, IV, p. 300, 1888.

(4) Bassini. Un caso de micetoma al piede o piede di Madura, *Archivio per le Scienze mediche*, XII, p. 309, 1888. Ref. in *Baumgarten's Jahresbericht*, IV, p. 299, 1888.

Obraszov et Petrov (1), en 1890, signalèrent chez une jeune fille, morte à la suite de lésions actinomycosiques, la présence, dans le poumon droit, de quelques foyers granuleux avec de nombreux filaments mycéliens dont l'apparence était celle d'un *Mucor* ou d'un *Penicillium*. Aucune culture du parasite ne fut faite.

En 1893, Ciaglinski et Hewelke (2) ont relaté une observation se rapportant à une variété de « langue noire » de laquelle ils ont isolé un Champignon qu'ils nommèrent *Mucor niger* (*Rhizopus niger*). Ils proposèrent d'appeler cette affection « nigrities mucorina linguae » ou « mycosis linguae mucorina nigra ». L'année suivante Sendziak (3) retrouva le même parasite dans deux nouveaux cas concernant cette maladie.

Herla (4) en 1895, observa l'existence d'un *Mucor*, dans une caverne pulmonaire, chez une Femme qui succomba à un cancer du foie. Malgré la figure donnée par l'auteur, à l'appui de son opinion, la nature du Champignon incriminé reste encore douteuse.

En 1899, Podack (5) a publié un mémoire, plein d'intérêt, sur les mucormycoses. L'auteur, en se livrant à l'examen histologique d'un soi-disant endothéliome de la cavité pleurale droite, rencontra dans le tissu pulmonaire sous-pleural de nombreux filaments mycéliens, accompagnés de sporanges ou portant simplement des columelles avec des spores. Ces filaments se montraient non seulement dans les alvéoles mais encore dans le parenchyme interstitiel et certains d'entre eux traversaient même les parois des veines. En outre il existait à la surface de la plèvre quelques ulcérations, également riches en mycélium, et, plus on s'éloignait de la tumeur, moins les filaments étaient abondants. Podack affirme que le parasite observé était le *Mucor corymbifer*. Le seul carac-

(1) E. Obraszov et N. Petrov, Fall gleichzeitiger Aktinomykose und Schimmelmykose, *Aus Kasan. Russkaja Medicina*, n° 29, 1889. Ref. in *Centralb. f. Backter. u. Parasitenk.*, VII, 1890.

(2) A. Ciaglinski et O. Hewelke, Ueber die sogenannte schwarze Zunge. *Zeitschrift f. klinische Medicin*, XXII, p. 626, 1893.

(3) J. Sendziak, Beitrage zur Aetiologie der sogen. schwarzen Zunge, *Monatssch. f Ohrenheilkunde*, XXVIII, p. 112, 1894.

(4) V. Herla, Note sur un cas de pneumycose chez l'Homme. *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, Série 4, IX, p. 1021, 1895.

(5) M. Podack, Zur Kenntniss des sogenannten Endothelkrebses der Pleura und der Mucormycosen im menschlichen Respirations-apparat. *Deutsch, Archiv f. Klinische Medicin*, LXIII, n° 1, 1899.

tère qui aurait pu le faire hésiter dans son diagnostic résidait dans la grosseur anormale des sporanges un peu moins volumineux que dans l'espèce ordinaire.

Enfin, en 1901, Lucet et Costantin (1) ont rapporté un cas observé par Lambry qui soignait une Femme pour une affection pulmonaire. Dans les crachats de la malade, ces auteurs trouvèrent des filaments mycéliens qui furent soigneusement cultivés et caractérisés comme ceux d'une Mucorinée nouvelle, à laquelle ils ont donné le nom de *Rhizomucor parasiticus*. Soumise au traitement, par l'arsenic et l'iodure de potassium, recommandé contre l'aspergillose, cette malade vit son état s'améliorer à un tel point que deux mois après cet état fut considéré comme satisfaisant.

En résumé, si on envisage l'ensemble des publications, relatives aux animaux et à l'Homme, qui font l'objet de cette revue, on constate qu'elles peuvent être rangées en quatre groupes d'une importance inégale.

Le premier embrasse tous les cas où le parasite est simplement signalé avec une dénomination plus ou moins arbitraire ; la plupart sont insuffisamment décrits et n'ont aucune valeur scientifique.

Le second renferme plusieurs observations concernant des tumeurs dont on a isolé un Champignon considéré, à tort ou à raison, comme une espèce mucorienne. Dans aucune d'elles, il n'a été prouvé que le parasite était bien la cause déterminante du néoplasme.

Les mucormycoses secondaires de l'appareil respiratoire constituent un troisième groupe. Il apparaît que le Champignon est venu s'implanter sur une lésion préexistante, en compliquant ainsi l'affection primitive. Presque toutes sont des trouvailles d'autopsie et il est impossible de définir la part de nocivité qui revient au parasite.

Un quatrième groupe enfin, comprend quelques observations de mucormycoses primitives (Paltauf, Lucet et Costantin, et peut-être Podack). Il montre que les Mucorinées peuvent remplir un rôle actif dans la Pathologie générale en agissant comme agents d'infection.

Nous rapportons ci-après quelques-uns des cas que nous venons

(1) Lucet et Costantin, Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, IV, p. 386, 1901.

d'analyser, en réservant pour un chapitre spécial tous ceux ayant trait aux mycoses de l'oreille, du nez et du pharynx.

Documents cliniques

OBSERVATION I (P. Fürbringer) (1).

« Ce cas concerne un Homme de 66 ans, qui mourut de carcinose généralisée. L'autopsie pratiquée par le professeur Arnold confirma ce diagnostic clinique en montrant un carcinome primaire de l'estomac et un grand nombre de nodosités cancéreuses métastatiques, ulcérées par places, dans la peau, la plèvre, le péricarde, le foie, l'épiploon et l'intestin.

La plèvre du lobe supérieur du poumon droit présentait, près du bord libre, deux taches grises, de la dimension d'une pièce de cinq francs, dont la périphérie était fortement vascularisée. Correspondant à ces deux taches, il existait deux foyers hémorrhagiques de la grosseur d'une noisette, dont le tissu pulmonaire, de consistance plus ferme, commençait à se gangréner. Il n'y avait pas trace d'odeur putride. Les deux poumons étaient emphysémateux.

Un examen microscopique ayant démontré la présence d'hyphes mycéliennes avec organes de fructification au sein de ces foyers, leur étude fut approfondie, après macération dans l'alcool concentré et durcissement préalable.

Une coupe transversale, examinée à l'œil nu, montrait les deux foyers, qui tranchaient sur le tissu pulmonaire emphysémateux voisin, d'une couleur rouge grisâtre allant au rouge brun, d'une consistance plus ferme et privés d'air, présentant à leur périphérie quelques petits foyers caséeux jaunes, et parsemés dans toute leur étendue par un grand nombre d'alvéoles dilatés et de bronchioles souvent confluentes. Le tissu pulmonaire environnant, d'une couleur gris foncé, n'offrait rien d'anormal en dehors de la dilatation considérable des alvéoles et de la disparition de leurs parois.

Un certain nombre d'alvéoles et de bronchioles renfermaient un liquide très réfringent. On pouvait, à l'aide d'une loupe, suivre facilement les filaments mycéliens et observer leurs ramifications et leurs terminaisons fructifères; il fut même possible de recueillir le contenu d'un de ces alvéoles et de l'examiner au microscope.

Dans le tissu infiltré par le sang la loupe ne montrait aucun mycélium, mais l'examen microscopique donna le résultat suivant : les alvéoles étaient remplis par des hématies; le tissu alvéolaire, ainsi que les vaisseaux, étaient partout apparents; au centre des foyers cependant, ces derniers n'étaient plus nettement visibles et étaient remplacés par une sorte de détritus finement granuleux; il n'y avait pas trace de produits

(1) P. FÜRBRINGER, *loco cit.*, p. 349.

de désagrégation gangréneuse et il fut impossible de déceler d'une façon certaine la présence de Bactéries; les petits foyers jaunâtres, mentionnés ci-dessus, étaient constitués par des globules de pus en voie de destruction, et dans toute la région du tissu infiltré on remarquait de nombreux points, surtout après traitement par une solution de potasse, où il existait du mycélium avec quelques rares sporanges; ces derniers étaient plus abondants dans les alvéoles pleins d'air. »

En étudiant sur des coupes nombreuses le mycélium qu'il venait d'observer, l'auteur fut amené à penser que cette moisissure était le *Mucor mucedo*, modifié sous l'influence du milieu. Presque toujours la membrane sporangiale faisait défaut, et dans les cas où elle subsistait encore il ne remarqua jamais les cristaux d'oxalate de chaux qui l'entourent habituellement. Les sporanges avaient un diamètre moyen de 10 à 60 μ, et les spores sphériques ou ovales, mesuraient de 3 à 4 μ sur 4 à 6 μ. ; de plus, les hyphes fructifères étaient généralement ramifiées.

Il est regrettable qu'aucune culture n'ait été faite, car il est vraisemblable, étant donnés la petitesse des sporanges et des spores, et la ramification des pédoncules sporangiaux, que le *Mucor* observé n'était pas le *M. mucedo*, mais le *M. corymbifer* ou une espèce voisine.

Observation II (P. Fürbringer) (1).

« Dans le second cas, il s'agissait des poumons d'un Homme de 31 ans, qui, après avoir présenté les symptômes d'un léger emphysème pulmonaire et d'un violent catarrhe intestinal, mourut de cachexie, peu de temps après son admission à l'hôpital, sans que l'autopsie pratiquée par le Dr Thomas lui ait permis de confirmer le diagnostic de carcinome qui avait été hypothétiquement établi. En revanche on a pu prouver la présence d'un catarrhe gastro-intestinal chronique qui intéressait la plus grande partie du tube intestinal et expliquait ainsi la cachexie observée.

Dans les sommets des deux poumons qui étaient emphysémateux on trouva deux foyers gangréneux de la grosseur d'une noix, entourés par une zone de tissu pulmonaire d'une couleur rouge brune, exempte d'air, infiltrée d'une substance gélatineuse, et d'une largeur de plusieurs millimètres. L'intérieur de chacun de ces foyers était exclusivement constitué par une masse semi-fluide, d'un gris jaunâtre sale, qui, lavée à l'eau, laissait apercevoir de nombreux filaments flottants. Le tissu désagrégé ne présentait pas de mauvaise odeur. L'hypothèse d'une pneumomycose dans

(1) P. Fürbringer, *loco cit.*, p. 356.

ces deux foyers fut écartée car ni à leur intérieur, ni dans la zone hémorrhagiquement infiltrée, on ne put déceler des filaments mycéliens.

Par contre, il existait derrière le foyer du sommet pulmonaire gauche, un autre foyer plus petit, ayant la même apparence, mais avec une zone hémorrhagique plus large. Une préparation microscopique montra, dans ce foyer, un mycélium richement ramifié avec des organes de reproduction. Ce foyer fut alors durci au moyen de l'alcool et étudié plus sérieusement.

Le tissu pulmonaire emphysémateux, nettement séparé de la zone hémorragique, n'avait rien d'anormal et cette zone, dans une grande étendue, était en rapport avec la plèvre. Au centre du tissu désagrégé il n'existait pas de filaments mycéliens; ce tissu semblait représenter les produits d'une nécrose très avancée. Les Bactéries étaient rares, mais à l'examen à la loupe, du tissu hémorrhagiquement épaissi, on constatait la présence d'une riche végétation de Mucorinée. Ce cas montre donc une disposition inverse de celle du cas ci-dessus où le parasite a envahi la caverne en laissant intacte la zone hémorrhagique. »

L'auteur affirme que le *Mucor* était identique à celui qu'il avait rencontré dans le cas précédent, seulement les sporanges se trouvaient à un état plus jeune. D'après Lindt, ces deux observations de Fürbringer doivent être rapportées au *M. corymbifer*.

Observation III (A. Paltauf) (1)

Antoine W..., âgé de 52 ans, journalier à Bokwen, en Bohême, arriva à Gratz le 12 janvier 1883 et fut admis le même jour à l'hôpital. Etant donné le peu de renseignements fournis par le malade, on put seulement savoir que depuis plusieurs années il était atteint de troubles gastriques. Depuis l'automne de l'année précédente (1882) il souffrait fréquemment de crampes qui se manifestaient surtout après un travail pénible. Pendant les huit jours qui précédèrent son entrée à l'hôpital les aliments étaient presque totalement rendus.

L'histoire de ce malade présente les observations suivantes qui sont dignes d'intérêt :

12 janvier : symptômes de catarrhe pulmonaire ; les bruits du cœur sont voilés et faibles, mais purs. Le malade éprouve une douleur quand on appuie sur l'épigastre. Dans la région du foie, on rencontre de la matité sur une très large surface. La langue est sèche, la température est de 37° C.

15 janvier : Depuis deux jours augmentation de la température qui est de 38°5. La peau devient nettement ictérique. L'abdomen, notablement distendu, est sensible à la pression. Diminution de la sensibilité générale.

16 janvier : Une petite dose de calomel provoque plusieurs selles liquides d'une coloration bilieuse. La sensibilité de la région hépatique a diminué.

(1) A. Paltauf, *loc. cit.*, p. 547.

La zone de matité ne peut pas être facilement limitée. La langue reste toujours sèche. Les battements du cœur sont accélérés : le premier bruit est plus accentué que le second. La matité de la rate est doublée. Le soir la température est de 37°3.

17 janvier : La température du matin est de 38°3. L'ictère augmente.

18 janvier : Les battements du cœur sont encore accélérés ; les bruits sont voilés. Le catarrhe pulmonaire augmente. La matité du foie est encore plus prononcée ; à gauche elle se confond avec la grosse matité de la rate. Les fèces sont colorées par de la bile. Les urines sont abondantes et à réaction acide. Pas d'albumine. La température élevée persiste.

20 janvier : Hydropisie modérée. Toute la région hépatique est très sensible à la pression. La prostration générale augmente rapidement. Le pouls est intermittent. Râles bronchiques dans les poumons. Assoupissement. Température 39°5.

21 janvier, 6 heures du soir : Perte absolue de connaissance ; mort.

L'autopsie fut pratiquée le lendemain par le professeur Eppinger. En voici les résultats :

« Corps très grand, d'une constitution robuste ; l'épiderme d'une couleur ictérique. Thorax bombé, court, large. Abdomen fortement distendu, mou au toucher. La voûte crânienne est grande et ronde ovale, d'une épaisseur énorme, sa substance est compacte. Les sillons des méninges sont profonds. La dure-mère peu tendue est d'une couleur très ictérique. Dans les sinus du cerveau, il y a un peu de sang fluide et foncé. Les méninges de la convexité sont épaissies, opaques, anémiées, infiltrées par une sérosité, d'une couleur ictérique ; celles de la base sont minces et pâles ; les vaisseaux de la base du cerveau sont faiblement rigides. La substance du cerveau est légèrement dure, coriace ; l'écorce est pâle, d'un gris jaunâtre ; la moelle est parsemée de quelques points hémorragiques clairs. Dans l'hémisphère gauche, tout près de l'extrémité antérieure de la cloison, on remarque un foyer arrondi de 1 cm. de diamètre, à périphérie dentelée, dont le tissu mou et friable a une couleur jaune brun ; la substance cérébrale qui l'entoure est œdématiée. Dans la profondeur de la scissure qui sépare les première et deuxième circonvolutions frontales on trouve un nouveau foyer, semblable au précédent, mais un peu plus petit. Les ventricules latéraux et moyens sont étroits ; leur épendyme est mince et pâle. Les plexus choroïdiens sont bruns jaunâtres ; les noyaux gris du cerveau présentent le même aspect. Le quatrième ventricule ressemble aux premiers. La substance du cervelet est identique à celle du cerveau. Au milieu du bord postérieur de l'hémisphère droit de ce cervelet, on observe un autre foyer, d'un diamètre de 1 cm. dont l'aspect est le même que ceux du cerveau. Enfin un dernier foyer est situé sur le bord extérieur de l'hémisphère gauche. L'isthme et la moelle allongée sont normaux. Le tissu cellulaire sous-cutané est très adipeux ; les muscles ont une coloration foncée. Les poumons adhèrent par places aux parois du thorax par des tractus fibreux. La cavité thoracique renferme une petite

quantité d'un liquide transparent, d'une couleur brun jaunâtre foncée, qui existe également dans le péricarde. La position du cœur est normale; il est gros, gras, très flasque; ses larges cavités contiennent une assez grande quantité de sang foncé et légèrement coagulé; sa musculature est amincie, friable, d'un brun rougeâtre; l'endocarde également mince et les valvules sont infiltrés de sang; il en est de même de la mince tunique interne de l'aorte. Le poumon gauche est volumineux et lourd. La plèvre viscérale est généralement mince; à certaines places rondes cependant elle est faiblement colorée en rouge, un peu épaisse et plus dure au toucher. Le tissu pulmonaire droit est pauvre en air, riche en sang et infiltré d'un liquide finement spumeux. On remarque çà et là des foyers, régulièrement disséminés, d'un diamètre de 1cm. à 1cm. 5 et même plus complètement privés d'air et durs au toucher. Les parties centrales de ces foyers sont sèches, d'un gris jaune ou jaune rougeâtre, d'une structure granuleuse, et se continuent par une zone rouge foncée, humide, hyperhémiée, nettement séparée du tissu environnant par une proéminence. Des foyers identiques se retrouvent dans les parties de la plèvre hyperhémiées signalées ci-dessus. Les bronches renferment des mucosités légèrement teintées par du sang. Le poumon droit est également volumineux et lourd, mais plus sec que le gauche; on observe les mêmes caractères et les mêmes lésions que dans le poumon, la plèvre et les bronches du côté gauche. Certaines parties de la muqueuse du pharynx et de l'œsophage sont minces et colorées en jaune. La partie de cette muqueuse pharyngienne qui s'étend à la droite du larynx est considérablement épaissie et tendue, dure au toucher et légèrement jaunâtre à sa surface; en faisant une incision il s'écoule du stratum sous-muqueux un liquide purulent jaune. La muqueuse qui tapisse le côté droit du larynx possède les mêmes caractères jusqu'à la ligne médiane et jusqu'au cartilage cricoïde; à gauche, au contraire, elle est mince et lisse, et présente ainsi que celle de la trachée une coloration ictérique. La glande thyroïde est petite, grossièrement grenue, d'une couleur brun foncée. L'aorte abdominale est dilatée; ses parois sont lisses et sa tunique interne est jaune.

Le grand épiploon est attaché aux viscères par des masses purulentes et par des fausses membranes qui abondent entre les anses de l'iléon adhérentes entre elles. Au moindre effort provoqué pour séparer ces membranes, on amène des déchirures de la paroi intestinale et il s'échappe de l'intestin un ascaride avec de nombreux caillots sanguins ayant la forme de boudins. D'autres anses intestinales adhèrent aux côtés droit et gauche de l'abdomen et les poches qu'elles constituent sont remplies par un exsudat purulent. Le péritoine a une couleur rouge et il est recouvert par un exsudat pyo-fibrineux. La rate a 13cm. de long et 9cm. de large; sa capsule est tendue; son tissu est mou, fragile, riche en pulpe, d'une coloration brune violette. La position et le volume des reins sont normaux; leur capsule est facilement détachable de leur surface lisse, brillante, présentant des taches jaunes verdâtres; la partie corticale

est plus épaisse ; le tissu est assez ferme, d'une couleur également jaune verdâtre ; les pyramides sont nettement limitées, d'une couleur brun rougeâtre avec des stries jaunes ; la muqueuse des bassinets et des calices est d'un jaune clair.

L'estomac et l'intestin grêle supérieur renferment des masses muqueuses biliaires ; leurs parois sont légèrement épaissies, d'une couleur ictérique. Si on examine cet intestin on trouve à 1 m. de la valvule cæcale un caillot sanguin en forme de boudin ; à cet endroit la muqueuse est complètement lisse et infiltrée de pigments biliaires. 25 cm. plus bas, on remarque à la partie supérieure des replis transversaux, des places infiltrées de sang. Encore plus bas, la muqueuse présente une ulcération, transversalement disposée, d'une longueur de 2cm. 5 et d'une largeur de 1 cm. 5 ; les bords dentelés de cette ulcération sont sanguinolents ; le fond est recouvert par une masse sanguino-biliaire ; par un léger râclage cette masse est enlevée et laisse apparaître la couche musculaire longitudinale. Au-dessous de cette première ulcération il en existe une autre de la même longueur, mais moins large ; 3cm. plus bas, on en rencontre une troisième analogue, de 4 cm. de longueur et de 2 cm. 5 de largeur, au milieu de laquelle on peut voir la séreuse jaune clair, recouverte par une couche fibrineuse. Après une interruption de 11 cm. pendant laquelle la muqueuse est complètement normale, on retrouve jusqu'à la valvule cœcale, à des distances variables, une série de onze ulcérations semblables, les unes peu profondes, les autres au contraire allant jusqu'à la séreuse qui apparaît même déchirée, à deux endroits. Au niveau de ces ulcères cette séreuse est recouverte par un caillot fibrineux. Les follicules de l'intestin grêle ne présentent rien de particulier,sauf qu'ils sont légèrement proéminents au-dessus de la muqueuse. Le caillot sanguin, en forme de boudin, accompagne toute ces lésions et ne se termine que dans le cœcum. Le côlon est étroit, ses parois plus épaisses ; sa muqueuse plissée est d'une couleur biliaire. Le foie est gros, lisse à sa surface ; son tissu est mou, friable, d'une couleur jaune brun ; le sang de ses vaisseaux est foncé et fluide. La vésicule et les canaux biliaires renferment une bile claire. La vessie contient une urine foncée ; ses parois, de même que la prostate, les vésicules séminales et les testicules, ne présentent rien d'anormal en dehors d'une coloration ictérique. »

Le liquide contenu dans le phlegmon laryngo-pharyngien, examiné immédiatement par le professeur Eppinger, renfermait de nombreux filaments mycéliens qui existaient aussi dans les abcès du poumon et du cerveau, ainsi que dans les ulcérations de l'intestin. Le diagnostic établi fut donc : Hyphomycose chronique.

L'étude microscopique de ce mycélium révéla à l'auteur, surtout dans le poumon, la présence de quelques sporanges qui étaient ovoïdes, d'une longueur de 20 à 43 μ et d'une largeur de 14 à 35 μ ; les spores, également ovoïdes, avaient un diamètre moyen de 1.5 μ

à 2.5 μ et les hyphes sporangifères étaient généralement ramifiées. Ces différents caractères lui permirent de supposer que le Champignon en question pourrait bien être le *Mucor corymbifer* de Lichtheim. Cette détermination, quoique très probable, ne s'appuie malheureusement sur aucun essai de culture. Il n'est pas douteux cependant que le parasite appartenait bien au stirpe *corymbifer*.

L'examen histologique des organes envahis par la Moisissure permit à l'auteur de faire les observations suivantes :

Les nombreux foyers pulmonaires étaient entourés par une zone d'exsudation fortement hyperhémiée, intéressant à la fois le tissu pulmonaire et les alvéoles qui contenaient des débris cellulaires et des noyaux. Au centre de ces foyers, la structure alvéolaire était détruite et faisait place à de petits abcès ou à des cavernes envahies par des détritus nucléaires et par un exsudat fibrineux. Les filaments mycéliens s'y montraient abondants soit à travers les débris cellulaires, soit accolés aux parois alvéolaires, soit à l'intérieur des capillaires. Dans un cas même ils présentaient la disposition rayonnée observée par Lichtheim chez le Lapin et que cet auteur a comparée à l'actinomycose, mais ici il n'existait ni tissu nécrosé, ni zone hémorrhagique. En dehors de ces foyers, le Champignon ne fut jamais rencontré dans le tissu pulmonaire intact.

Les foyers du cerveau étaient analogues à ceux du poumon ; leur centre était également nécrosé, mais leur mycélium était totalement dépourvu d'organes reproducteurs.

Les ulcérations de l'intestin montrèrent qu'il s'agissait d'escarres inflammatoires, s'étendant parfois jusqu'à la séreuse, et remplies par des infiltrations fibrineuses ou granuleuses avec des filaments mycéliens. Ceux-ci pénétraient à l'intérieur des vaisseaux ou s'insinuaient entre les faisceaux de la couche musculaire. Ces escarres étaient environnées par une zone hémorragique plus ou moins large.

Le foie présentait un commencement de dégénérescence graisseuse, mais sans traces de mycélium.

Paltauf, en s'appuyant sur ses observations cliniques et anatomopathologiques, discute ensuite l'origine probable de l'infection parasitaire. Les symptômes gastriques et intestinaux, les ulcères profonds de l'intestin, la présence d'une péritonite pyo-fibrineuse l'ont autorisé à admettre que cette infection a débuté au niveau

de l'intestin ; les foyers du poumon et du cerveau pouvaient être considérés comme plus récents et d'origine métastatique.

OBSERVATION IV (Lucet et Costantin) (1)

« Madame N.-A..., 30 ans, mariée, pas d'enfants, malade depuis dix-huit mois, a subi sans succès divers traitements pour une maladie dite d'estomac ; de taille moyenne, plutôt maigre, peu colorée, physionomie mobile, agitée par un tic des paupières et un spasme des commissures des lèvres, regard fuyant, aspect hystérique ;

Régulièrement réglée, sujette au moment de ses époques à des poussées congestives de la face ;

Cinquième enfant de père et mère vivants et bien portants, a perdu une sœur mariée, morte, à 35 ans, de tuberculose à marche rapide, les autres enfants n'ont aucune tare apparente ;

Pendant l'hiver 1889, cette femme est tombée à l'eau, il en serait résulté, dit-elle, un long rhume guéri sans aucun traitement ;

De 1889 à 1895 n'a plus jamais toussé ;

En avril 1895, à la suite d'une violente émotion, M[me] N.-A..., ayant dû accomplir un long trajet, à pied, la nuit, dans la neige, a été prise de vertiges, d'étouffements, de palpitations ;

Lentement l'appétit a disparu, faisant place à un état nauséeux persistant avec sensation de pesanteur à l'épigastre ;

La toux apparaît en juin 1895, le matin seulement, elle est sèche, quinteuse, accompagnée d'une expectoration très rare ;

A aucun moment de sa maladie, M[me] N.-A... n'a eu de frissons, de sueurs, ni de fièvre ;

La malade accuse une gêne récente en avant, du côté droit de la poitrine, entre la clavicule et le sein ;

Elle souffre d'une douleur spontanée au niveau du bord spinal de l'omoplate du même côté ;

Elle définit ainsi la gêne qu'elle éprouve : c'est un chatouillement continuel, « quelque chose qui m'aiguillonne dedans », et elle porte la main au-dessus du sein droit ;

Quelques mois plus tard, ces mêmes symptômes s'étendront à la même région du côté gauche ;

Pas d'enrouement : le pharynx et l'amygdale droite sont le siège d'une rougeur diffuse peu intense, pas de granulations pharyngées ;

Cette malade n'a jamais eu d'épistaxis ni d'hémoptysie, même à l'époque des congestions menstruelles qui lui causent des bouffées de chaleur à la face.

La langue est étalée, saburrale ; l'appétit capricieux ; les quintes de toux du matin occasionnent des nausées qui ne se reproduisent jamais dans la journée ; la dentition est en bon état.

(1) LUCET, COSTANTIN et LAMBRY, *loco cit.*, p. 386.

A la percussion, pas de modification appréciable de l'élasticité ni de la sonorité ;

A l'auscultation, à droite, dans le tiers supérieur, l'inspiration est rude, nettement saccadée, divisée en deux temps égaux ; l'expiration est à peine perceptible et n'est pas sensiblement prolongée.

Quelques sibilances se font entendre en avant, quelques râles fins, secs à l'inspiration seulement en arrière, entre l'angle supérieur de l'omoplate et la goutière vertébrale.

Je constate en avant et en arrière, à droite, une pectoriloquie aphone manifeste, elle existe également à gauche, mais moins accentuée, et de ce côté ne s'entendent ni râles ni sibilances.

Les crachats sont rares, expulsés le matin seulement par quelques quintes de toux qui n'ont lieu ni le jour ni la nuit ; ils sont compacts, très mobiles, faits de mucus dense, peu aérés, et colorés par de petits îlots d'un gris-bleu pâle.

Ces symptômes, rapprochés des antecédents héréditaires, imposent l'idée d'une tuberculisation à marche lente, accompagnée de troubles gastriques chez une névropathe.

Cependant, la toux se manifeste le matin seulement, elle est suivie de l'expulsion de crachats très rares et d'un aspect et de coloration insolites ».

Voulant déterminer la nature de ces expectorations singulières, le Dr Lambry en confie l'examen à Lucet, en vue d'y rechercher le Bacille de Koch. Les crachats recueillis dans un tube à essai ont un aspect muqueux assez caractéristique sur lequel la malade attire l'attention du médecin. Leur couleur est gris bleuâtre, et ils offrent, en outre, des traînées plus grises semblant formées par des amas de très fines granulations réunies en tas.

Les méthodes classiques d'Ehrlich et de Kühne ne révèlent pas l'existence du Bacille de Koch, mais des globules sphériques pourvus de prolongements s'observent, rappelant ceux qu'on voit dans l'aspergillose. L'examen de nouveaux crachats, fait quelques jours après, met en évidence (par coloration à la thionine phéniquée) la présence : 1° de spores intactes ; 2° de spores en voie de germination ; 3° de fragments de mycélium jeune. Des cultures faites en liquide Raulin donnent d'emblée à l'état de pureté le *Rhizomucor parasiticus*.

La présence de ce Champignon n'était pas accidentelle, car de nouveaux examens faits une première fois huit jours plus tard, une seconde fois trois semaines après, donnèrent le même résultat à l'ensemencement.

« Recueillis fréquemment, continue le D[r] Lambry, dans son rapport, parfois en ma présence, dans des tubes stérilisés, bouchés à l'ouate, les crachats restant négatifs quant au Bacille de Koch, le traitement n'aura plus en vue que la présence du « *Mucor* », toujours très abondant, et l'état de neurasthénie. »

Il y avait donc lieu d'essayer de traiter la malade par la méthode de l'arsenic et de l'iodure de potassium qui avait été recommandée en pareil cas contre l'aspergillose (Lucet et Rénon). C'est ce que fit le D[r] Lambry.

« L'iodure de potassium administré au début, étant mal toléré, il fallut y renoncer, et le remplacer par diverses préparations arsénicales : granules d'arséniates de soude, d'acide arsénieux, sirop de phosphate de chaux arsénié, liqueur de Fowler; préparations associées aux amers et à l'hémoneurol Cognet, jusqu'au retour de l'appétit et au relèvement de l'état général.

« Lente au début, l'amélioration s'accentua après deux mois de tâtonnements ; l'appétit revint, la toux fut moins quinteuse, plus rare, les crachats perdant progressivement leur coloration vert bleuâtre. »

Pendant cette période de traitement, les crachats de cette femme furent examinés un nombre de fois assez considérable, à des intervalles plus ou moins éloignés, et l'ensemencement des milieux nutritifs donna des résultats positifs en grand nombre. Quelques essais cependant restèrent infructueux, mais ils furent relativement rares dans les premiers mois du traitement ; c'est plus tard seulement qu'ils devinrent plus nombreux et finirent de même par être la règle, à mesure que l'amélioration se manifestait avec plus de netteté dans l'état de la malade.

« La malade, en décembre, reprend le D[r] Lambry, pesait 49 kilos ; elle atteignait 54 kil. 500 et 58 kil. en juin ;

Elle se remit à l'ouvrage qu'elle avait abandonné depuis plusieurs années.

A la fin de juin, je recueillis quelques crachats très teintés de noir, M. A. Lucet n'y trouva que des particules de charbon et de très rares filaments très grêles du *Mucor*.

En juillet, l'état de la respiration peut être considéré comme satisfaisant, les bruits anormaux ont entièrement disparu et la pectoriloquie aphone n'est plus perceptible.

Non seulement la malade suffit aujourd'hui aux soins de sa maison, mais elle a repris l'alimentation habituelle de nos campagnes. »

Otomycose et mucormycose naso-pharyngée.

Otomycose. — Si les infections de l'oreille par des Moisissures sont relativement fréquentes, il faut avouer que peu d'auteurs français se sont réellement préoccupés de l'otomycose. Il convient toutefois de signaler la thèse de Souls (1) et le résumé donné, peu avant, par Dubreuilh dans sa revue sur les Moisissures parasitaires (2). A l'étranger il paraît en être autrement et nous renvoyons, en ce qui concerne l'ensemble de la question, à l'excellente monographie publiée par Siebenmann en 1889 (3). Dans son travail, cet auteur rapporte 53 cas d'otomycose, parmi lesquels 2 seulement sont attribués à des Mucorinées. C'est dire que la part qui revient aux Champignons qui font l'objet de ce travail est peu importante. Néanmoins, nous plaçant à un point de vue général, nous avons recherché dans la littérature toutes les observations pouvant être mises sur le compte des Mucorinées et nous les produisons simplement, sans vouloir nous livrer à une étude qui n'est pas de notre compétence.

Observation I (J. Böke (4)) : « Au mois de novembre 1868, une Femme de 28 ans, qui jusqu'à cette époque n'avait jamais souffert des oreilles, devint peu à peu sourde, sans ressentir aucune douleur, après s'être introduite à plusieurs reprises dans l'oreille, à la suite d'une laryngite, des gouttes d'huile. Des injections dans le conduit auditif externe en firent sortir des masses pseudo-membraneuses de Champignons et le traitement répété huit jours après donna le même résultat. La guérison fut amenée rapidement à l'aide d'instillations d'extrait de saturne. Le Champignon en présence duquel on se trouvait était un *Mucor* (*M. mucedo*) qui était muni de sporanges en forme de poires remplis de spores ». Siebenmann croit que le parasite incriminé était plutôt le *M. corymbifer*.

Observation II (B. Hückel (5)) : « L..., âgé de 27 ans, était dur d'oreilles depuis le bas-âge, mais il n'a jamais souffert, ni eu d'écoulement. Depuis deux mois la surdité a augmenté et il éprouve dans les deux oreilles des bourdonnements et des démangeaisons intolérables.

(1) F. Souls, *Contribution à l'étude de l'otomycose*. Thèse de Bordeaux, 1891.
(2) W. Dubreuilh, *loco citato*.
(3) F. Siebenmann, *Die Schimmelmycosen des menschlichen Ohres*. Wiesbaden, 1889.
(4) J. Böke, Zwei Fälle von Pilzwucherungen am Trommelfelle. *Ungarische med. chir. Presse*, 1869. — Ref. in *Monatschr. für Orhenheilk.*, III, 1869.
(5) A. Hückel, *loco citato*.

Dans les conduits auditifs externes, on trouva, au milieu du cérumen foncé et épais, deux masses d'un blanc grisâtre qui en remplissaient entièrement la lumière et sur lesquelles on remarquait déjà, à l'examen macroscopique, des filaments mycéliens dressés avec des petites têtes plus foncées. Une partie de ces masses fut extraite à l'aide d'une injection, mais la portion qui occupait le fond du conduit auditif externe, et était comprise entre une exostose de ce conduit et le tympan, ne put être enlevée qu'avec précaution et au moyen d'une sonde. La membrane du tympan et les parois du conduit auditif étaient ramollies et très congestionnées. Après un nettoyage on fit une injection à l'alcool au sublimé ; il n'y eut pas de récidive. Les démangeaisons disparurent, tandis que les bourdonnements et la dureté de l'ouïe diminuèrent. L'état de l'oreille était analogue à celui qui est observé dans l'otite catarrhale moyenne et externe ».

L'auteur examina au microscope les bouchons de cérumen, après traitement par une lessive de potasse. Il constata qu'ils étaient constitués par des cellules épithéliales, par des gouttelettes graisseuses et par des cristaux d'oxalate de chaux. Entre ces divers éléments se trouvaient intercalés de nombreux filaments mycéliens avec, au dehors, de nombreux filaments sporangifères ramifiés. Par des cultures et des inoculations expérimentales chez le Lapin, il identifia le parasite avec le *Mucor corymbifer*.

OBSERVATION III (Jakowski (1)) : « M. W. F....., chirurgien de l'hôpital de l'Enfant-Jésus, éprouvait depuis quelques semaines une impression désagréable et des bourdonnements dans l'oreille droite. Le Dr Modrzejewski, après avoir examiné l'oreille, en retira quelques membranes d'une coloration brune qu'il donna à examiner en vue de l'otomycose. »

L'auteur procéda à un examen bactériologique sur cette membrane ainsi que sur de petites particules qu'il enleva directement de l'oreille au moyen de pinces stérilisées. Il démontra ainsi la présence du *Mucor ramosus* que Lindt venait de décrire.

Modrzejewski remarqua, en outre, la longueur et la tenacité de l'affection. Cette observation est en concordance avec celles de Lindt qui attribue au parasite incriminé une très grande malignité.

OBSERVATION IV (F. Siebenmann (2)) : « G. B..., âgé de 40 ans.

Le 3 février 1881. — Depuis deux jours, écoulement de l'oreille gauche avec affaiblissement de l'ouïe. Six mois auparavant ce malade avait été examiné par le professeur Bezold et avait présenté, des deux côtés, les traces d'une otite moyenne purulente. Seule la partie supérieure du tympan existait encore et enveloppait le manche du marteau. Pas de suppu-

(1) JAKOWSKI, Otomycosis mucorina. *Gazeta lekarska*, n° 34, 1888. — Ref. in *Centralb. für Bakter. und Parasit.*, V, 1888, p. 388, et VIII, p. 145, 1890.

(2) F. SIEBENMANN, Neue botanische und klinische Beiträge zur Otomykose. *Zeitschr. für Ohrenheilk.*, XIX, p. 7, 1889.

ration. La parole à haute voix était perçue, à droite, à une distance de 8 centimètres, à gauche à une distance de un mètre et demi.

Actuellement, donc six mois après, il est revenu avec une récidive d'otorrhée gauche qui avait débuté deux jours avant, sans aucune douleur. Des injections dans l'oreille amenèrent des matières, les unes d'un brun sale, les autres blanchâtres, qui,examinées au microscope, montrèrent les éléments suivants :

Beaucoup de graisse libre; des masses de spores rondes, incolores, de dimensions variables ; des filaments mycéliens entourant des gouttelettes graisseuses : des hyphes fructifères, plus grosses, très ramifiées, avec des parois relativement épaisses et des cloisons qui étaient fréquentes au voisinage des sporanges. Ceux-ci étaient le plus souvent vides, mais quelques-uns cependant, d'une coloration brun foncé, renfermaient encore des spores ».

L'étude de ce Champignon, à l'exception de toute culture cependant, lui permit de le considérer comme une nouvelle espèce qu'il appela : *Mucor septatus*. Nous avons dit plus haut que Fischer croit pouvoir l'identifier avec le vulgaire *M. racemosus*?.

Observation V (F. Siebenmann (1)) : « J. K..., 27 ans, mineur.

Le 8 décembre 1883. — Depuis 3 ans présente un affaiblissement de l'ouïe des deux côtés. Par moments des bourdonnements et des vertiges. Pas d'hérédité. Le malade s'est instillé plusieurs fois et notamment depuis un mois avec du « Gehöröl ». Démangeaisons violentes dans les deux oreilles. — A droite, dans le conduit auditif et sur le tympan, il existe des croûtes sèches d'une coloration brunâtre. Après les avoir enlevées, le tympan, ainsi que le manche du marteau, apparaissent blanchâtres et montrent une rougeur diffuse. — A gauche, dans la partie postéro-interne on remarque un extravasa sanguin d'originer écente. Dans le conduit auditif externe il n'existe pas d'excoriation. L'épiderme est épaissi et forme des stries égales. — L'ouïe, pour la parole à haute voix, s'étend jusqu'à 10 centimètres à droite et 5 centimètres à gauche. — Lorsqu'on frappe le vertex avec un diapason, la résonnance ne se produit qu'à gauche. Le cathétérisme n'a amené aucune amélioration ».

L'examen des croûtes révéla à l'auteur la présence de nombreux sporanges de *Mucor corymbifer*, accompagnés d'un mycélium très fin. Cette détermination fut contrôlée par des cultures et des inoculations.

Observation VI (H. Graham (2)) : « Pendant le mois de septembre dernier une jeune Femme se présenta à la polyclinique du « Johanniter Hospital », éprouvant de vives douleurs et une démangeaison dans le conduit auditif, avec bourdonnement d'oreilles. Une masse d'aspect blanc grisâtre, mélangée avec une certaine quantité d'un liquide peu foncé

(1) F. Siebenmann, *loco citato*.

(2) H. Graham, *Mucor corymbifer* in the external auditory meatus. *The Lancet*, II, p. 1379, 1890.

fut retirée de son oreille et portée au laboratoire du Collège protestant syrien où elle fut soumise à un examen très sérieux : on constata la présence du *Mucor corymbifer*. Une culture permit d'observer le développement du parasite. Les hyphes sporangiales étaient incolores et les sporanges entourés d'une membrane transparente et lisse. Ces hyphes étaient insérées sur un pédoncule commun, également transparent, et formaient une sorte d'ombelle; les spores très petites, incolores ovales, étaient agglutinées ensemble. La jeune Femme fut probablemeut débarrassée de tout symptôme morbide car elle ne revint plus à la clinique. Elle échappa ainsi à notre observation et il nous fut impossible d'avoir aucun renseignement sur ses antécédents, sinon qu'elle avait souffert d'otorrhée » (Beyrouth).

Mucormycose naso-pharyngée. — Les observations de mycose concernant les fosses nasales ou le pharynx sont excessivement rares, puisqu'on n'en compte que cinq ou six au sujet desquelles le rôle nocif du Champignon trouvé reste encore des plus douteux. La présence d'une Mucorinée a été constatée dans deux de ces cas.

Dans le premier, rapporté par Schubert (1), l'existence d'un *Mucor* dans la cavité nasale est simplement signalée. La seconde observation, décrite par Siebenmann (2), concerne un cas de mycose de la voûte palatine chez une Femme de 49 ans atteinte d'une carie syphilitique de cette région, mais qui succomba à une autre affection. A l'autopsie, l'auteur rencontra au niveau de la muqueuse une croûte arrondie d'un diamètre de 2 centimètres 1/2 qui était constituée en grande partie par un feutrage de filaments mycéliens. Ces filaments appartenaient les uns à l'*Aspergillus fumigatus* et à l'*A. nidulans*, les autres au *Mucor corymbifer* et se trouvaient à l'état de maturité. Siebenmann émet l'opinion que ces Champignons s'étaient développés avant la mort de la malade mais il ajoute qu'il faut les considérer comme de simples saprophytes.

(1) P. Schubert, Fadenpilze in der Nase. *Berliner Klinische Wochenschr.*, n° 39, 1889.

(2) F. Siebenmann, Ein sweiter Fall von Schimmelmykose des Rachendaches. *Monatssch. für Ohrenheilk.*, n° 4, 1889.

TROISIÈME PARTIE

MUCORMYCOSES EXPÉRIMENTALES

Historique

Les premières recherches expérimentales sérieuses, relatives aux Moisissures, datent de 1870 ; elles sont dues à Grohé (1). Cet auteur provoqua, par l'injection de spores dans les veines de Lapins, une affection mortelle en trente ou trente-six heures. A l'autopsie il trouva dans presque tous les viscères, dans les muscles du thorax, dans les ganglions lymphatiques, et même dans la moelle osseuse, des petits foyers nodulaires qui ressemblaient à des tubercules miliaires. A l'examen microscopique ces nodules paraissaient constitués par de nombreux filaments mycéliens et par des produits de désagrégation cellulaire. Quand l'injection était faite dans la carotide, les mêmes foyers étaient observés dans le cerveau, le plexus choroïde, la rétine et la choroïde. Enfin, si l'inoculation avait lieu dans la cavité péritonéale on les remarquait de préférence sur la péritoine et sur le diaphragme.

Grohé constata, en outre, que la germination des spores commençait à l'intérieur des vaisseaux sanguins et que plus tard les filaments mycéliens traversaient les parois vasculaires pour continuer ensuite à s'accroître au milieu des tissus voisins. Sa communication fut suivie et complétée, dès la même année, par le travail de son élève Bloch (2).

Ces expériences auraient été faites, d'après leurs auteurs, avec des spores d'*Aspergillus glaucus*, de *Penicillium glaucum* et avec des Levûres. Il paraît hors de doute, que la détermination botanique de ces divers Champignons a été erronée, et il est vraisemblable que les effets pathogènes obtenus étaient dus plutôt à l'*Aspergillus fumigatus* ou à toute autre espèce virulente.

La conséquence immédiate de cette erreur fut que ceux qui répé-

(1) Grohé, Experimente über die Injection der Pilzsporen von *Aspergillus glaucus* und *Penicillium glaucum* in das Blut und die serösen Säcke. *Medicinischer Ver. zu Greifswald. Berliner klin. Wochenschr.*, p. 8, 1870.

(2) Bloch, *Beiträge zur Kenntriss der Pilzbildung in den Geweben des thierischen Organismus.* Inaug. Diss., Greifswald, 1870.

tèrent ultérieurement les mêmes expériences arrivèrent à des conclusions tout à fait contradictoires. Il n'en est pas moins vrai que c'est à Grohé et à Bloch que revient tout le mérite d'avoir divulgué, pour l'étude des mycoses, une méthode nouvelle dont les résultats devaient être multiples.

Ces essais furent renouvelés en 1877 par Grawitz (1), sur des Chiens et des Lapins, non seulement avec le *Penicillium glaucum*, l'*Aspergillus glaucus* et des Levûres, mais encore avec des spores d'*Aspergillus niger*, de *Mucor mucedo*, *M. stolonifer*, *M. racemosus*, *Oïdium lactis*, *O. albicans* et *Botrytis Bassiana*. Sur 200 animaux, pas un seul ne mourut, que les inoculations fussent pratiquées dans les veines, la carotide, les séreuses ou dans la chambre antérieure de l'œil. L'auteur attribua ses insuccès à plusieurs causes (alcalinité du sang et des tissus, mouvements du sang, température trop élevée, insuffisance d'oxygène, etc.), mais en même temps il soupçonna Grohé d'avoir obtenu des résultats positifs grâce à l'emploi de liquides contenant, outre le *Penicillium glaucum* et l'*Aspergillus glaucus*, les spores de quelque espèce pathogène inconnue.

En 1880, dans une seconde série d'expériences, Grawitz (2), qui était dans le vrai, abandonna cette voie et s'efforça de démontrer la possibilité de rendre pathogènes les Moisissures saprophytes, dépourvues de toute virulence, en les acclimatant graduellement à la vie parasitaire au moyen de cultures préalables. Le *Penicillium glaucum* et l'*Aspergillus glaucus*, entre autres, lui ayant donné des effets mortels, paraissant corroborer ceux de Grohé et de Bloch, il considéra leur virulence comme une propriété artificielle qui s'acquiert ou se perd en faisant varier les conditions de végétation propres à ces Champignons.

Les faits avancés par Grawitz avaient une portée telle, au point de vue de la pathologie générale, qu'ils suscitèrent, de toutes parts, un grand nombre de recherches nouvelles.

Koch et Gaffky (3), après avoir répété les expériences de Grawitz, soutinrent que la dernière opinion de cet auteur était inexacte et

(1) Grawitz, Beiträge zur systematischen Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen. *Virchow's Archiv*, LXX, p. 546, 1877.

(2) Grawitz, Ueber Schimmelvegetationem in thierischen Organismus. Experimentelle Untersuchung. *Virchow's Archiv*, LXXXI, p. 355, 1880.

(3) Koch et Gaffky, *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt*, I, 1881.

que les conclusions auxquelles il était arrivé devaient être attribuées à l'impureté de ses cultures. Ils essayèrent de démontrer que si certaines Moisissures, le *Penicillium glaucum* par exemple, étaient toujours inoffensives, quelle que soit la façon de les cultiver, d'autres, au contraire, comme l'*Aspergillus glaucus*, étaient invariablement pathogènes. Malheureusement une confusion se glissa encore dans la détermination de cette dernière espèce.

Baumgarten et Müller (1), puis Kaufmann (2) firent faire un nouveau pas à la question en étudiant l'action virulente de plusieurs *Aspergillus*. Kaufmann, en particulier, observa que l'*A. niger*, qui croît à basse température, n'est pas pathogène, tandis que l'*A. glaucus* se développant à 38°-39° amène seul la mort des animaux. Il pensa donc que Grawitz, dans ses cultures successives, obtenait et inoculait des espèces différentes dont les proportions relatives étaient en rapport direct avec les températures auxquelles il les soumettait.

Au même moment, Lichtheim (3) montra combien est importante la notion de l'espèce quand il s'agit d'étudier les mycoses expérimentales — la présence dans les cultures d'une seconde Moisissure, même en faible proportion, étant suffisante pour fausser complètement les résultats. C'est ainsi qu'il prouva, d'une manière irréfutable, que toutes les cultures d'*Aspergillus*, ayant servi de bases aux précédentes investigations, renfermaient à la fois de l'*A. glaucus* complètement inoffensif et de l'*A. fumigatus* très virulent. La question se trouvait ainsi élucidée.

Depuis les travaux de Lichtheim, de nombreux auteurs, en apportant des faits nouveaux, sont venus les contrôler ou les compléter. Les uns se sont proposé d'établir le pouvoir pathogène d'une Moisissure donnée à l'égard de tel ou tel animal ; les autres ont eu pour but de déterminer le mode de pénétration du Champignon dans l'organisme, d'étudier les lésions qu'il cause et les résistances qu'il éprouve, ou ont essayé d'obtenir une atténuation de sa virulence.

(1) Baumgarten et Müller, Versuche ueber accomodative Züchtung von Schimmelpilzen. *Berliner klin. Wochenschr.*, n° 32, 1882.

(2) Kaufmann, Recherches sur l'infection produite par l'*Aspergillus glaucus*. *Lyon médical*, XXXIX, n°s 4 et 10, 1883.

(3) Lichtheim, Ueber pathogene Schimmelpilze. Die Aspergillus mycosen. *Berliner klin. Wochenschr.*, p. 129 et 147, 1882.

Sans vouloir passer en revue la totalité des résultats acquis, il n'était pas inutile de résumer ces premières tentatives, car elles mettent nettement en évidence les erreurs considérables auxquelles on s'expose quand les espèces expérimentées sont impures ou mal définies.

La plupart des recherches de cet ordre intéressent d'ailleurs le genre *Aspergillus* et plus spécialement l'*A. fumigatus*. A ce titre, celles qui méritent d'être retenues ont pour auteurs Ribbert (1), Kotliar (2), Ciaglinski (3), Rénon (4), Lucet (5) et Saxer (6).

Mucormycoses. — La lecture des précédents chapitres rend non moins évidente la faculté que possèdent certaines Mucorinées d'engendrer des maladies ou de vivre en parasites, à la manière des *Aspergillus*. Il est donc naturel qu'on ait songé à inoculer aux animaux quelques-uns de ces Champignons.

Dès 1877, au début de ses recherches, Grawitz utilisa plusieurs espèces mucoriennes et nous avons vu qu'il obtint des résultats négatifs avec les *Mucor mucedo*, *M. racemosus* et *M. stolonifer* (*Rhizopus nigricans*).

Aussi, est-ce encore à Lichtheim (7) que nous devons le premier travail vraiment important sur les mucormycoses expérimentales : il le publia en 1884, peu après son remarquable mémoire sur l'aspergillose. Ayant isolé le *Mucor corymbifer* et le *Rhizopus Cohni*, il injecta leurs spores dans les veines de Lapins et il remarqua qu'il communiquait, à ces animaux, une maladie toujours mortelle dont la marche était modifiée suivant la quantité de spores introduites.

Lichtheim constata que les Lapins succombaient habituellement au bout de trois ou quatre jours, sans jamais présenter les mouvements impulsifs et les troubles de l'équilibre que l'on observe au

(1) H. Ribbert. *Der Untergang pathogener Schimmelpilze im Körper*. Bonn, 1887.

(2) Kotliar, Contribution à l'étude de la pseudo-tuberculose aspergillaire. *Annales de l'Institut Pasteur*, VIII, p. 479, 1894.

(3) Ciaglinski, *loco cit.*

(4) Rénon, *loco cit.*

(5) Lucet, *loco cit.*

(6) Saxer, *loco cit.*

(7) Lichtheim, Ueber pathogene Mucorineen und die durch sie erzeugten Mykosen des Kaninchens. *Zeitschr. f. klinische Medicin*, VII, p. 140, 1884.

cours de l'infection aspergillienne. L'autopsie et l'examen des organes lui prouvèrent que le siège des lésions n'était pas le même dans les deux variétés de mycoses.

Après avoir décrit les caractères anatomo-pathologiques des principales lésions, dont quelques-unes paraissaient identiques à celles de la fièvre thyphoïde — avec sensiblement la même localisation — l'auteur rappelle qu'en 1879 il avait déjà attiré l'attention sur un cas de mycose du Lapin chez lequel l'état des reins malades lui permet de supposer qu'il avait eu affaire à une Mucorinée.

Chez les animaux qui avaient résisté huit à quinze jours à l'inoculation, il existait dans le poumon quelques petits foyers dont le centre était occupé par des formations actinomycosiques ressemblant à celles que donne l'*Aspergillus fumigatus*. Le Chien fut complètement réfractaire à l'infection mucorienne, malgré l'injection de fortes doses de spores virulentes.

Lichtheim, au cours de ce travail, fut amené à opposer l'action des Mucorinées à celle des Bactéries : à l'encontre de ces dernières, les Mucorinées se développeraient simplement dans les tissus sans jamais se multiplier par la production d'organes de fructification. Il confirma également les dires de Grawitz, concernant le *Rhizopus nigricans*, à savoir que les spores de cette espèce étaient complètement inoffensives pour le Lapin.

L'année suivante, Hückel (1) eut l'occasion de rencontrer de nouveau le *Mucor corymbifer* en examinant le cérumen d'un malade atteint de surdité. Après culture et identification de ce parasite, il l'inocula à des Lapins, mais il ne put que corroborer les observations du précédent auteur.

En 1886, Lindt (2), se proposant de retrouver les deux espèces étudiées par son maître Lichtheim, découvrit à son tour deux nouvelles Mucorinées (*Mucor pusillus* et *M. ramosus*). Leurs spores introduites dans les veines jugulaires de Lapins provoquèrent rapidement la mort de ces animaux, en 24 à 36 heures avec le *M. ramosus*, en deux à cinq jours avec le *M. pusillus* : la virulence de ces espèces était donc comparable à celle du *M. corymbifer* et du *Rhizopus Cohni*. L'autopsie révéla à l'auteur qu'elles produisaient les mêmes lésions.

(1) A. Hückel, *loco cit.*
(2) W. Lindt, *loco cit.*

En 1892, Stange (1) entreprit une suite d'expériences en vue de déterminer le pouvoir nocif de plusieurs Mucorinées. A cet effet il s'adressa d'une part aux espèces pathogènes déjà connues (*Mucor corymbifer*, *M. ramosus*, *Rhizopus Cohni*), de l'autre à deux espèces saprophytiques très communes (*Mucor mucedo* et *Rhizopus nigricans*). Il inocula leurs spores dans les veines de Lapins et de Chiens et, sauf dans un cas, chez un Lapin, il obtint constamment des résultats positifs. D'après cet auteur, le *M. mucedo* et le *R. nigricans* seraient donc pathogènes, contrairement aux assertions de Grawitz et à celles de Lichtheim : introduits dans la cavité abdominale de Cobayes et de Rats, ils provoqueraient des effets également mortels.

Stange essaya, en outre, de contaminer un certain nombre d'animaux soit par la voie trachéale (Lapins, Cobayes, Chèvre et Corbeaux) soit par le tube digestif (Lapins, Cobayes, Rats blancs et Mouton). Dans ses premiers essais les Mammifères ne furent pas incommodés mais les Corbeaux moururent en deux à sept jours; par l'ingestion, au contraire, tous les animaux restèrent vivants. Les spores intactes qui avaient traversé le tube digestif n'avaient subi aucune modification dans leur virulence.

Si la description des lésions observées par Stange n'était qu'une nouvelle confirmation des connaissances déjà acquises, ses expériences concernant les Mucorinées vulgaires révélaient un fait inattendu dont la vérification s'imposait. D'après nos expériences il faut admettre que l'auteur n'avait pas pratiqué l'ensemencement de ses cultures avec toute la pureté désirable.

Klissitch (2), en 1899, s'est proposé, à son tour, de compléter les observations des précédents auteurs en étudiant de nouveau l'action, sur des Lapins et sur des Cobayes, du *Mucor corymbifer* et du *Rhizopus Cohni*, dont les spores furent injectées successivement dans la veine jugulaire, la cavité abdominale et le tissu cellulaire souscutané. Tous les animaux succombèrent (sauf ceux inoculés sous la peau) en présentant des phénomènes à peu près identiques, tant au point de vue clinique qu'à l'examen anatomo-pathologique. Dans

(1) G. Stange, Experimenteller Beitrag zur Pathogenität der Mucorineen. Inaug. Diss., Dorpat, 1892.

(2) Klissitch, Des Mucoro-mycoses. *Archives russes de Pathologie, de Médecine clinique et de Bactériologie*, VII, p. 576, 1899.

les tissus où avait lieu la germination des spores il remarqua que le processus débutait par une inflammation aiguë, à laquelle succédaient souvent des phénomènes nécrotiques, occasionnés par une thrombose mécanique des vaisseaux et par une compression de ces tissus (1). La nécrose se traduisait par une chromatolyse des noyaux et par la dégénérescence albumineuse et graisseuse des éléments cellulaires. L'auteur semble admettre que le protoplasme des filaments mycéliens renferme une substance déterminant l'inflammation et la suppuration ultérieure qu'il observait.

Klissitch reconnaît enfin que les mucormycoses ne sont pas contagieuses, que les infections généralisées ne peuvent être qu'isolées et que les Mucorinées se développent de préférence sous la forme d'infections secondaires.

Par plusieurs notes ou mémoires, parus en 1900 et 1901, Lucet et Costantin (2) ont fait connaître trois nouvelles espèces de Mucorinées pathogènes (*Mucor Truchisi*, *M. Regnieri* et *Rhizomucor parasiticus*). Inoculés dans les veines, au moyen des deux premières Moisissures, les Lapins mouraient en quatre à onze jours, en présentant des lésions considérables des reins et des ganglions mésentériques et production de quelques petits tubercules blanchâtres.

Le *Rhizomucor parasiticus*, dont l'étude est plus complète, serait virulent non seulement à l'égard du Lapin, mais encore pour le Cobaye et la Poule. Les auteurs ont observé que ces animaux succombaient, en trois à sept jours, quand les injections étaient intraveineuses ou intrapéritonéales, mais résistaient lorsque l'introduction des spores était faite sous la peau ou par la voie trachéale. Le Chien paraît présenter une immunité absolue, quelle que soit la voie choisie pour le contaminer.

Nouvelles expériences : cultures et inoculations

Deux faits principaux se dégagent de l'historique qui précède :

(1) C'est l'inverse qui a lieu habituellement : les phénomènes nécrotiques précèdent, en général, la réaction leucocytaire.

(2) Lucet et Costantin, Sur une nouvelle Mucorinée pathogène. *Comptes-rendus Acad. des sc.*, CXXIX, p. 1031, 1899. — *Rhizomucor parasiticus. Revue générale de Botanique*, XII, p. 81, 1900. — Quelques Champignons pathogènes nouveaux. *Bull. Acad. de médecine*, XLV, p. 570, 1901. — Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, IV, p. 352, 1901.

1° Il existe un certain nombre de Mucorinées dont le pouvoir pathogène n'est pas douteux et qui déjà ont donné lieu à d'intéressantes recherches expérimentales. Leurs spores introduites dans le torrent circulatoire des animaux, causent infailliblement une mort plus ou moins rapide, en produisant des lésions dont l'étude anatomo-pathologique, d'ailleurs loin d'être complète, légitimait de nouvelles investigations.

2° Quelques autres espèces, des plus vulgaires et ordinairement saprophytes, considérées par la plupart des auteurs comme inoffensives, seraient également capables de provoquer des accidents mortels quand on les inocule par la même voie (Stange).

Dans le but d'augmenter nos connaissances sur ces deux points de l'histoire des Moisissures parasites, nous avons entrepris une nouvelle série d'expériences à l'effet d'étudier quelques-unes des lésions anatomiques causées par une Mucorinée pathogène typique, et de préciser le degré de la virulence attribuée, à tort ou à raison, à diverses espèces saprophytes. Nous nous sommes adressé, d'une part, au *Mucor corymbifer* dont le pouvoir pathogène est suffisamment établi, de l'autre aux *M. mucedo*, *M. racemosus*. *Rhizopus nigricans* (*Mucor stolonifer*), signalés à différentes reprises comme parasites de l'Homme et des animaux, mais dont la virulence hypothétique ne pouvait être admise qu'après sérieuse confirmation. Enfin, à titre de curiosité, nous avons essayé dans les mêmes conditions le *Mucor alternans*, dont les propriétés biologiques ne sont pas ignorées (1).

Les spores de ces Moisissures ont été successivement inoculées soit au Cobaye, soit de préférence au Lapin, dont la sensibilité à l'égard de l'infection mucorienne a été mise en évidence, dès 1884, par les travaux de Lichtheim, et qui était tout désigné pour nous servir de réactif expérimental.

(1) Le *Mucor corymbifer*, que l'on se procure facilement dans tous les laboratoires de Bactériologie, nous a été aimablement communiqué par le Dr J. Binot, de l'Institut Pasteur de Paris; nous avons expérimenté concurremment sur des échantillons de diverses origines (Institut Pasteur de Lille et laboratoire de Král). Le *Mucor mucedo* et le *Rhizopus nigricans*, espèces très communes, ont été isolés par nous au laboratoire de Microbiologie de l'École supérieure de pharmacie de Paris. Quant aux *Mucor racemosus* et *M. alternans*, ils nous ont été gracieusement fournis, à l'état de cultures pures, le premier par le Dr Matruchot, Maître de conférences à l'École normale supérieure, le second par notre ami le Dr Turquet, attaché au laboratoire du professeur Van Tieghem au Muséum.

Mais avant d'exposer les résultats relatifs à chaque mode d'inoculation, ainsi que la technique que nous avons suivie, il nous paraît indispensable d'indiquer les quelques milieux qu'il convient d'employer pour obtenir régulièrement des matériaux convenables, c'est-à-dire des cultures aussi luxuriantes que riches en spores. C'est là une question de premier ordre, dont il faut se préoccuper tout d'abord, quand on traite un sujet de parasitologie mycologique (1).

MÉTHODES DE CULTURE. — Il n'entre pas dans le cadre de ce travail de discuter la valeur des nombreux milieux qui, depuis Brefeld, ont été tour à tour utilisés pour l'étude botanique des Mucorinées. La plupart, sans grand intérêt pour nous, ne méritent qu'une simple énumération ; les autres, au contraire, qui ont répondu plus ou moins complètement aux exigences de nos recherches, seront mentionnés avec leur composition et les avantages qu'ils nous auront offerts.

Parmi les substrata naturels dont la préparation ne souffre aucune difficulté et dont plusieurs sont d'un usage courant dans la pratique bactériologique, nous citerons les décoctions de pruneaux, de raisins, de crottins de Cheval, le moût de bière, l'extrait de malt, les jus de citron et d'orange, le pain mouillé, les carottes, les pommes de terre, etc. Tous ces milieux, qu'ils soient liquides ou solides, présentent le grave inconvénient d'avoir une composition chimique extrêmement variable. Or, nous ne saurions trop insister sur les garanties dont il faut s'entourer quand il s'agit d'expérimenter sur des Moisissures, les résultats obtenus n'ayant de valeur scientifique qu'autant que l'identité de chaque espèce a été rigoureusement déterminée et que les cultures sont d'une pureté absolue. On comprendra donc que nous ayons eu recours exclusivement à l'emploi des milieux artificiels : seuls ils pouvaient nous permettre de cultiver nos espèces dans des conditions toujours identiques, ce qui était précieux pour les expériences comparatives que nous poursuivions.

(1) Pour nos cultures et nos inoculations, M. le professeur Radais a bien voulu mettre à notre disposition le laboratoire de Microbiologie de l'École supérieure de pharmacie : qu'il nous permette de lui renouveler nos plus affectueux remerciements.

D'ailleurs Grimbert pour les Bactéries (1), puis Lutz et Guéguen pour les Mucédinées et les Levûres (2) n'ont-ils pas insisté déjà comme il convenait sur la supériorité des milieux artificiels opposés aux milieux naturels ? Le premier de ces auteurs a même indiqué les règles qui devraient présider à toute étude de ce genre et qui peuvent se résumer ainsi :

1° Déterminer et fixer la composition des milieux de culture employés et le mode rationnel de leur préparation.

2° Etablir les règles conventionnelles pour l'examen des propriétés morphologiques et biologiques d'un microorganisme, c'est-à-dire dresser la liste des épreuves à lui faire subir pour mettre en évidence ses diverses fonctions.

Malheureusement si ces deux propositions ont été réalisées en ce qui concerne les *Aspergillus* pour lesquels Raulin a composé un liquide de choix, qui a servi de base aux beaux travaux de Rénon sur l'aspergillose, il est loin d'en être de même pour les Mucorinées. Plusieurs essais dans ce sens ont bien été tentés, mais si quelques solutions artificielles ont été indiquées par les auteurs, aucune ne nous a donné entière satisfaction.

Brefeld, dès 1870, a employé la formule suivante :

Glycose	10
Nitrate d'ammoniaque	0.25 — 0.50
Cendres de cigare	0.25 — 0.50
Eau	100

On fait bouillir cette solution et on y ajoute de l'acide citrique jusqu'à réaction faiblement acide.

Peu après, Van Tieghem et Le Monnier (3) ont utilisé la solution minérale ci-après :

Nitrate de chaux	4	grammes
Phosphate de potasse	1	—
Sulfate de magnésie	1	—
Nitrate de potasse	1	—
Eau	700	—

(1) L. Grimbert, De l'unification des méthodes de culture en bactériologie. *Archives de Parasitologie*, I, p. 191, 1898.

(2) Lutz et Guéguen, De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des Mucédinées et des Levûres. *Actes du Congrès international de botanique*, p. 415, Paris, 1900.

(3) Van Tieghem et Le Monnier, Recherches sur les Mucorinées. *Ann. des sciences natur.*, Bot., (5), XVII, 1873.

Plus récemment Gérard (1) s'est servi d'un milieu nutritif dont voici la composition :

Lactose	100 grammes
Azotate de potasse.	1 —
Phosphate de soude	1 —
Sulfate d'ammoniaque	0 gr. 50
Carbonate de magnésie	0 gr. 50
Eau	1.500 grammes

Enfin, nous-même, nous inspirant des travaux précédents, avons composé plusieurs liquides artificiels, avec dosages méthodiques de leurs éléments constitutifs, dont nous faisions varier les proportions. La formule ci-dessous que nous avons adoptée nous a semblé préférable à toute autre :

Maltose	30 grammes
Peptone	10 —
Nitrate de chaux	1 —
Azotate de potasse	1 —
Phosphate de soude	1 —
Sulfate d'ammoniaque	1 —
Eau distillée	1000 —

Ces différents milieux, d'un excellent usage lorsqu'on se propose de suivre le développement des Mucorinées, ne fournissent que des résultats insignifiants quand il s'agit, et c'était notre cas, d'obtenir des cultures à rendement maximum. Les spores ensemencées à leur surface ne tardent pas à tomber au fond des vases où leur germination, très lente, donne naissance à un mycélium qui reste toujours chétif. C'est même exclusivement à cette difficulté de croissance, au sein des liquides, qu'est due l'impossibilité, momentanée nous l'espérons, où nous nous sommes trouvé de rechercher et par suite d'étudier les principes solubles que les espèces pathogènes peuvent élaborer dans les milieux où elles vivent.

Devant ces insuccès, nous avons eu recours directement aux substrata solides, qui, d'ailleurs, il faut le reconnaître, se prêtaient merveilleusement à notre méthode d'inoculation.

L'eau panée, additionnée de gélose ou de gélatine, donne d'excellents résultats. C'est elle qui a permis à Lichtheim et à Lindt de

(1) E. Gérard, Sur les Cholestérines des Cryptogames. *Journal de pharmacie et de chimie*, S. 6, I, 1895.

faire leurs premières observations sur les Mucorinées pathogènes, et malgré l'inconstance de sa composition chimique, dont les variations sont en somme assez limitées, son emploi mérite d'être recommandé.

Sa préparation est des plus simples : on fait bouillir pendant un quart d'heure dans l'eau distillée du pain blanc ordinaire, préalablement desséché à l'étuve et grossièrement pulvérisé (il convient d'ajouter 100 grammes de pain pour un litre de liquide à obtenir) ; on passe sur un linge peu serré, de la mousseline par exemple; puis, pour solidifier ce décocté, auquel on conserve sa réaction légèrement acide, on l'additionne de gélose dans la proportion habituelle, soit 15 pour 1.000 ; finalement on stérilise à l'autoclave.

Un des milieux indiqués par Sabouraud pour la culture des Champignons des teignes tondantes, fournit, non moins sûrement, un mycélium des plus vigoureux, pourvu de nombreux sporanges. On peut le préparer facilement et rapidement ; sa formule est la suivante :

Glycose anhydre	4
Peptone	0.90
Eau	100
Agar-Agar	1.5

Nous avons trouvé avantageux d'augmenter la dose des substances azotées (2 gr. de peptone, au lieu de 0.90)

Il est encore possible d'arriver à de notables, mais inconstants résultats, en utilisant les divers substrata employés dans les laboratoires : gélose glycérinée, bouillon gélatiné, extrait de malt gélosé, etc.

Enfin, quand nous avons voulu nous procurer, à coup sûr, un mycélium, atteignant tout le développement dont il est capable et portant de nombreux sporanges, nous avons utilisé un milieu sucré, également artificiel, préparé par le Dr J. Binot à l'Institut Pasteur, qu'avec la plus grande obligeance, il a mis à notre disposition, sans toutefois nous en indiquer la formule.

Nous n'avons pas besoin de rappeler qu'il faut tenir le plus grand compte de la température qui est toujours un facteur de premier ordre. L'optimum des espèces pathogènes oscille entre 35° et 40°, tandis que les espèces saprophytes préfèrent en général une température plus basse. Nous n'insisterons pas sur ce point

spécial qui a été mentionné pour chaque espèce mucorienne, en même temps que ses caractères botaniques. Nous ajouterons seulement que les myceliums sont plus vigoureux et les sporanges plus nombreux lorsque le substratum est largement aéré; le contraste est frappant si l'on compare des cultures faites en tubes, en flacons d'Erlenmeyer ou dans de grands cristallisoirs.

Les semis, destinés aux cultures pures, doivent, en principe, partir d'une seule spore. Divers procédés ont été recommandés pour arriver à ce résultat; un des plus commodes est le suivant :

On commence par toucher un sporange de la culture mère avec un fil de platine légèrement humecté avec de l'eau stérilisée. La membrane sporangiale se rompt et les spores se dissocient dans la gouttelette liquide, que l'on transporte dans un verre de montre flambé, contenant lui-même une petite quantité d'eau bouillie. Après un séjour de quelques heures pendant lesquelles les spores se gonflent et subissent un commencement de germination, on prélève des traces du liquide au moyen d'une anse de platine et on pratique une strie sur une lame porte-objets soigneusement stérilisée. On examine cette strie au microscope et si elle ne renferme qu'une seule spore, elle peut servir à la culture; mais si, au contraire, il y en a plusieurs, on en élimine une partie au moyen d'un fragment de papier buvard, et cela jusqu'à ce qu'il n'y ait plus qu'une seule spore. A ce moment on dépose sur cette dernière une goutte de liquide nutritif ou, mieux, on la pique avec une aiguille effilée et on la transporte directement à la surface du substratum.

Il est clair que, dès qu'une culture parfaitement pure a été obtenue, il devient fastidieux de suivre, à la lettre, cette méthode longue et minutieuse ; il suffit alors d'ensemencer directement les milieux suivants au moyen d'un sporange prélevé à la surface de cette culture initiale.

Modes et voies d'inoculations. — Tous ceux qui, avant nous, se sont occupés des mycoses expérimentales, aspergillose ou mucormycoses, ont suivi pour leurs inoculations une technique très simple qui leur permettait en outre d'évaluer, d'une façon approximative il est vrai, la quantité de spores injectées.

Il suffit en effet de prendre une culture d'*Aspergillus*, vieille d'une huitaine de jours, et de recueillir les spores avec une petite spatule de platine. Ces spores se détachent facilement de leurs stigmates

et sont ensuite déposées dans des tubes qui contiennent soit du bouillon peptonisé, soit une solution physiologique de chlorure de sodium ; on agite et on a ainsi une suspension de spores dont on remplit la seringue à injections (1). Ce procédé est inapplicable aux Mucorinées, surtout si l'on se sert de milieux gélosés. En effet, lorsqu'on essaye de prélever leurs spores dans les mêmes conditions que ci-dessus, les hyphes sporangifères, trop peu résistantes, se recourbent sous la moindre pression et viennent se feutrer à la surface du substratum, de telle sorte que les sporanges se trouvent pour ainsi dire enchevêtrés dans le mycélium et que la spatule ne ramène rien ou presque rien.

Il était indispensable de remédier à cet inconvénient. Aussi, pour obtenir d'emblée un liquide injectable, qui renferme suffisamment de spores, nous avons employé le moyen ci-dessous :

On commence par préparer des vases coniques d'Erlenmeyer dans lesquels on coule une couche nutritive d'un centimètre d'épaisseur environ (pain gélosé, milieu Sabouraud ou mieux milieu Binot). Avec les précautions d'usage on ensemence l'espèce que l'on se propose d'expérimenter, on met le vase à l'étuve et on l'abandonne pendant 4 ou 5 jours, c'est-à-dire jusqu'à la maturité complète des spores. A ce moment, on verse sur la culture un volume variable d'une solution de chlorure de sodium à 7 pour 1000 (6 à 8 centimètres cubes suffisent ordinairement), puis on agite le flacon. Les membranes sporangiales diffluent et les spores se mettent en suspension dans le liquide.

La dissociation des spores peut être favorisée en passant légèrement, à la surface du substratum, l'extrémité d'une spatule ou d'un agitateur, et en écrasant contre les parois du vase ceux des sporanges qui sont restés entiers. C'est même là une manœuvre qui s'impose avec certaines espèces, telles que le *Mucor mucedo* ou le *Rhizopus nigricans* : leurs grosses spores ne se laissant mouiller que très difficilement, l'agitation seule donne un liquide trop pauvre. Par contre, avec les espèces pathogènes il est presque superflu d'y avoir recours, car leurs petites spores se répandent avec la plus grande facilité dans la solution à injecter. Une goutte de cette solution, placée sur une lamelle et examinée au micros-

(1) C'est à cette suspension que la plupart des auteurs appliquent improprement le terme d'émulsion.

cope permet d'ailleurs de se rendre compte de sa richesse sporifère.

Il faut bien se garder toutefois d'inoculer directement la suspension ainsi préparée. C'est qu'en effet elle renferme non seulement des spores mais encore des fragments de mycélium qu'il est indispensable d'éliminer. L'introduction de ces derniers dans le courant sanguin, par exemple, ne pourrait amener que des mécomptes : ou bien ils provoqueraient la mort immédiate des animaux à la suite d'accidents emboliques, ou bien ils seraient transportés dans des organes indemnes ordinairement et qui, à l'examen histologique ultérieur, donneraient l'apparence d'une véritable germination de spores. Dans les deux cas les résultats seraient donc faussés.

Pour éviter cette cause d'erreurs, il suffit de filtrer préalablement la suspension à travers une étamine peu serrée et stérilisée. Le liquide sporifère est reçu finalement dans un tube, également stérilisé, dans lequel se fera la prise au moyen de la seringue.

Nous avons dit plus haut que nos inoculations avaient été pratiquées sur des Lapins et sur des Cobayes. Les premiers, d'un poids moyen de 2.000 à 2.300 grammes, ont été inoculés dans la veine marginale (postéro-externe) de l'oreille, les seconds dans le péritoine, par l'un des procédés habituels.

A titre de contrôle, nous avons effectué, à chaque inoculation, un semis témoin à l'aide d'une goutte du liquide sporifère contenu dans la seringue. De plus, après chaque autopsie nous avons prélevé, dans des conditions d'asepsie aussi parfaites que possible, un fragment de rein malade avec lequel nous avons ensemencé un second tube témoin. La similitude des deux cultures nous prouvait l'identité du parasite existant dans les lésions rénales.

Résultats des inoculations et lésions expérimentales.

Nous avons donc inoculé à des Lapins et à des Cobayes une Mucorinée pathogène vraie (*Mucor corymbifer*) et quelques autres d'origine saprophytique (*M. mucedo*, *M. racemosus*, *M. alternans et Rhizopus nigricans*). Sans entrer dans les détails relatifs à chacune de nos expériences — détails fastidieux et sans intérêt — nous allons exposer simplement la synthèse de nos résultats en rappelant, à leur suite, ceux qui, antérieurement, ont été obtenus au moyen des diverses espèces reconnues comme virulentes. Nous indiquerons

après, dans les mêmes conditions, les lésions qui ont été observées.

1° Voie intraveineuse. — C'est la méthode par excellence pour obtenir sûrement des effets mortels. Les Lapins domestiques adultes ont reçu dans les veines, trois ou même deux centimètres cubes de *Mucor corymbifer* : ils ont succombé en 48 à 72 heures. Le jour de l'inoculation ils ne présentaient rien d'anormal, mais dès le lendemain ils semblaient fatigués, perdaient l'appétit, s'affaiblissaient, avaient une diarrhée intense et restaient blottis dans un coin de leur cage d'où ils ne bougeaient que si on les touchait. A ces symptômes venaient s'ajouter les signes d'une paralysie des membres inférieurs ; la palpation des régions lombaires montrait enfin que les reins étaient volumineux et surtout très douloureux.

Les mouvements impulsifs et les troubles de l'équilibre décrits par Lichtheim chez les animaux atteints d'aspergillose expérimentale — et attribués par lui à des lésions de l'oreille interne — faisaient toujours défaut.

A signaler aussi les modifications qui survenaient dans la marche et la durée de la maladie quand on réduisait la quantité des spores introduites : plus leur nombre était petit, plus éloignée était l'issue fatale. C'est ainsi qu'un de nos Lapins, inoculé avec un centimètre cube seulement de *M. corymbifer*, a résisté pendant six jours à l'infection mucorienne ; les symptômes toutefois sont restés les mêmes. Il est donc nécessaire de faire quelques réserves à l'égard des chiffres que nous allons rapporter, car la teneur en spores des différents liquides employés a certainement varié d'un auteur à l'autre, de sorte que leurs résultats ne sont pas absolument comparables.

Le *M. ramosus* est plus nocif que le *M. corymbifer*, car les Lapins meurent en 24, ou au plus en 36 heures, par l'injection d'un seul centimètre cube de suspension virulente (Lindt).

L'action pathogène des *M. Truchisi* et *M. Regnieri* se rapproche au contraire de celle de notre espèce type ; ils tuent les Lapins en trois ou quatre jours (Lucet et Costantin).

Le *M. pusillus* est un peu moins actif : cinq centimètres cubes d'une riche suspension n'ont déterminé la mort des mêmes animaux que quatre jours et demi ou cinq jours après l'inoculation (Lindt).

Le *Rhizomucor parasiticus*, injecté à la dose de un à deux centi-

metres cubes, tue invariablement les Lapins en 3 à 6 jours ; c'est donc une espèce des plus dangereuses. Les Cobayes sont non moins sensibles à l'action du parasite, car un quart ou un demi-centimètre cube constituent des doses mortelles. La Poule ne résiste pas à l'infection tandis que le Chien est resté complètement réfractaire (Lucet et Costantin).

La virulence du *Rhizopus Cohni* est analogue en ses effets, mais plus marquée que celle du *M. corymbifer* (Lichtheim). Cette espèce serait, comme la précédente, inoffensive à l'égard du Chien (Lichtheim). Stange affirme au contraire qu'elle est également nocive pour cet animal.

Enfin, il résulte de nos expériences que le *Mucor mucedo* et le *Rhizopus nigricans*, dont le pouvoir pathogène a été admis par les uns et nié par les autres, sont sans action sur le Lapin et sur le Cobaye. Nous sommes arrivé au même résultat négatif avec le *Mucor racemosus* et le *M. alternans*.

2° Voie intrapéritonéale. — L'introduction de spores virulentes dans la cavité péritonéale cause en général des accidents analogues mais à évolution plus lente : les Lapins résistent, en moyenne, quatre ou cinq jours à une dose ordinaire de *M. corymbifer*. Avec un centimètre cube, la mort des Cobayes ne survient qu'au bout de six ou sept jours, tandis qu'une dose identique procure le même effet en 48 heures, quand on l'injecte dans les veines.

Lucet et Costantin, puis Stange ont constaté pareil ralentissement, les premiers chez le Lapin à l'aide du *M. Truchisi* et du *M. Regnieri*, le second d'abord sur un Cobaye avec le *M. ramosus*, puis sur un Rat avec le *Rhizopus Cohni*. Le *Rhizomucor parasiticus* ne se comporte pas autrement.

Les inoculations que nous avons pratiquées sur des Cobayes soit avec le *M. mucedo*, le *M. racemosus* ou le *Rhizopus nigricans* n'ont jamais provoqué d'accidents graves. Les animaux paraissaient légèrement incommodés, le jour même ou le lendemain de l'injection, mais 48 heures après, tout malaise apparent avait disparu.

3° Voie trachéale. — Les auteurs sont unanimes à reconnaître que ce procédé de contamination ne réussit qu'exceptionnellement quand on l'applique aux Mammifères.

Le *M. corymbifer*, et le *Rhizopus Cohni* chez le Lapin, le *Rhizomucor*

parasiticus chez le Lapin, le Cobaye et la Poule, le *Rhizopus nigricans* chez la Chèvre n'ont donné lieu à aucun résultat sérieux.

Stange a remarqué la sensibilité particulière du Corbeau lorsqu'on utilise cette méthode d'inoculation. Injectés dans la trachée avec le *M. corymbifer*, le *M. ramosus* et le *Rhizopus Cohni* à la dose uniforme de quatre centimètres cubes, ces Oiseaux moururent après deux ou trois jours.

4° Ingestion. — Introduites par la voie digestive les spores des Mucorinées ne déterminent pas d'accidents. Un Lapin, un Cobaye et un Rat qui, pendant un mois, avaient respectivement absorbé, avec leur nourriture, une énorme proportion de spores de *M. corymbifer*, de *M. ramosus* et de *Rhizopus Cohni*, n'ont présenté aucun symptôme maladif. Des cultures ultérieures ont prouvé que ces spores traversaient le tube digestif sans perdre ni de leur virulence, ni de leur pouvoir germinatif. Un Mouton qui reçut directement dans l'estomac une riche suspension de *M. corymbifer* et de *Rhizopus Cohni*, n'en fut nullement incommodé (Stange).

5° Injections sous-cutanées.— Le *M. corymbifer*, le *Rhizopus Cohni*, et le *Rhizomucor parasiticus* ne donnent lieu à aucune infection générale, quand on les inocule sous la peau du Lapin ou du Cobaye: ils provoquent simplement des phénomènes de suppuration locale.

Lésions mucoriennes expérimentales.

Les spores des Mucorinées pathogènes introduites dans les veines produisent des lésions multiples qui paraissent indépendantes de l'espèce inoculée. Elles atteignent tous les organes mais avec une intensité très inégale. Comme pour l'aspergillose, l'infection peut se manifester sous l'aspect de lésions pseudo-tuberculeuses, mais elle ne revêt pas uniquement cette forme, jamais d'ailleurs observée par nous. Nous signalerons çà et là quelques particularités qui permettent de différencier les deux variétés de mycoses (1).

1° Appareil rénal — En premier lieu il convient d'étudier les lésions des reins qui sont toujours envahis et profondément altérés

(1) Ces quelques observations d'anatomie pathologique ont été faites au laboratoire de M. le professeur Cornil, sous la direction de M. le Dr R. Marie, que nous sommes heureux de remercier pour l'extrême obligeance avec laquelle il nous a aidé de ses conseils.

chez les Lapins et les Cobayes. Le volume de ces organes est doublé ou même triplé et il n'est pas rare de voir le rein droit adhérer à la partie inférieure du foie. Leur surface, exceptionnellement lisse, présente un aspect marbré et comme mamelonné, occasionné par des taches d'un rouge intense, d'apparence hémorrhagique, alternant avec d'autres taches d'un blanc-grisâtre.

En pratiquant une coupe du rein, la surface de section se montre brillante, translucide, humide et très-œdématiée. L'écorce et la moelle sont également tuméfiées et leur limite commune n'est pas marquée. La partie corticale reproduit assez exactement l'image de la surface, mais les marbrures sont divisées par des irradiations des stries de la pyramide. Cette dernière est d'une couleur rouge violacée, hémorrhagique, avec des stries plus claires dans le sens radial.

Les reins de nos Lapins ne présentaient pas les petites taches, ou foyers gris-jaunâtres, remarquées par Lichtheim qui les a considérées comme des amas de filaments mycéliens. Les bassinets ont été signalés par cet auteur comme entourés par un tissu conjonctif très-œdématié; leur muqueuse était tapissée par une pseudo-membrane adhérente — qui, pour Lindt, serait formée de fibrine renfermant à la fois des hématies, des leucocytes et les mêmes filaments mycéliens — se prolongeant jusqu'au milieu des uretères ; elle n'existait pas chez nos animaux.

L'urine, généralement claire, est quelquefois sanguinolente par suite de la présence d'hémoglobine dissoute et d'un certain nombre d'hématies (Lichtheim). Elle renferme toujours une notable proportion d'albumine.

Chez les animaux ayant succombé à une infection aiguë, l'examen histolologique nous a révélé l'existence, dans tout l'organe, d'une quantité considérable de filaments mycéliens, en voie de développement, surtout abondants dans certains tubes. Les glomérules en sont relativement dépourvus, mais leurs capillaires sont riches en spores. Cette répartition inégale semble indiquer que le rôle de ces glomérules est secondaire et consiste uniquement à livrer passage aux spores. Celles-ci, amenées dans l'organe par les vaisseaux, se rendent ainsi dans les tubes où elles germent en distendant très largement leurs parois (fig. 9). Nous sommes, sur ce point, en contradiction absolue avec les faits annoncés par

Lichtheim, puis par Klissitch, qui admettent que les glomérules sont toujours les éléments les plus touchés, ce qui arrive d'ailleurs normalement pour l'aspergillose.

Dans les tubes où elle s'est développée, la végétation mucorienne est généralement luxuriante et constitue un feutrage, tantôt lâche, tantôt serré, à l'intérieur et autour duquel s'accumulent des leucocytes en voie de karyolyse. L'affection débute en frappant leur épithélium qui est rarement respecté : d'abord aplati, il devient méconnaissable, est fréquemment desquamé et même complètement nécrosé. Une coupe longitudinale montre le trajet suivi par les filaments mycéliens : ils s'insinuent entre les cellules épithéliales, quand elles existent encore, perforent les parois des tubes et vont végéter, en l'irritant, dans le tissu conjonctif environnant ; d'où congestion des capillaires et diapédèse consécutive (fig. 10).



Fig. 9. — Mucormycose du rein chez le Lapin : Coupe transversale de deux tubes hypertrophiés et gorgés de nombreux filaments mycéliens.

A côté de ces lésions incombant directement au Champignon, on constate dans toutes les parties de l'organe, qui échappent à l'action immédiate du parasite, les caractères d'une néphrite plus ou moins intense. Les glomérules ne montrent, il est vrai, qu'une légère exsudation dans la capsule de Bowmann, mais l'intégrité des tubes est presque exceptionnelle. Tantôt l'altération de ces tubes consiste en une tuméfaction considérable de leurs cellules épithéliales, de sorte que leur lumière est à peine perceptible : les noyaux de ces cellules fixent encore les matières colorantes, mais plus difficilement qu'à l'état normal, et leur protoplasme clair est constitué par de fines granulations disséminées sans ordre au milieu d'une substance fondamentale anhiste (dégénérescence albumineuse de

certains auteurs). Tantôt les éléments épithéliaux ont perdu complètement la netteté de leurs contours et se désagrègent à l'intérieur des tubes. La présence de cette néphrite établit une différence essentielle entre les mucormycoses et l'infection aspergillienne. Dans cette dernière les lésions de néphrites manquent totalement (Rénon).

Nous insisterons également sur l'absence complète de dégénérescence graisseuse et la rareté des réactions inflammatoires dont l'apparition est consécutive à celle des phénomènes nécrotiques et qui sont strictement limitées à la diapédèse, déjà mentionnée, au voisinage des tubes gorgés de mycélium (Klissitch admet au contraire, à l'inverse de ce qui a lieu normalement, que le processus inflammatoire précède toujours la nécrose des tissus).

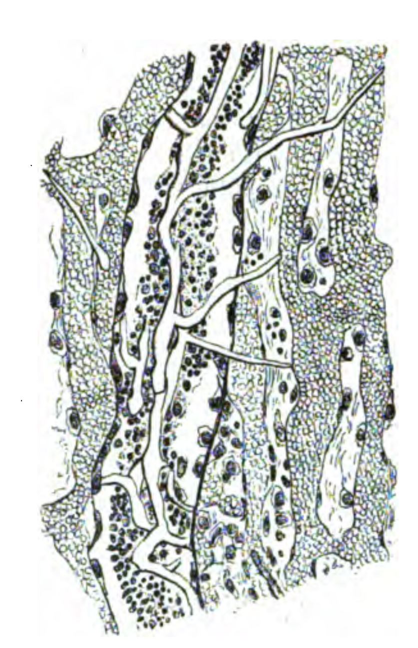


Fig. 10. — Mucormycose du rein chez le Lapin : Coupe longitudinale d'un tube montrant le développement des filaments qui perforent ses parois et cheminent dans les tissus environnants.

Il résulte aussi de nos observations que les lésions tuberculiformes sont exceptionnelles quand la mort des Lapins survient rapidement; c'est là encore un excellent caractère distinctif qui sépare nettement l'aspergillose des mucormycoses.

Lorsque les animaux résistaient plus longtemps à l'action du parasite, ce qui est facile à obtenir en diminuant la dose de spores injectées, Lichtheim a constaté la disparition de l'aspect hémorrhagique. La surface du rein était alors parsemée de taches jaunâtres, proéminentes, correspondant à des foyers de mycélium, et se continuant jusqu'à la papille sous la forme de stries radiales. Parfois, rayonnaient à partir de cette papille, des stries rouge-jaunâtres, disposées en

éventail, se dirigeant vers la surface qu'elles atteignaient souvent. L'auteur suppose que les spores germaient dans les vaisseaux de l'écorce, que les filaments mycéliens pénétraient ensuite dans les tubes qu'ils parcouraient pour arriver aux bassinets, puis que, ultérieurement, ils remontaient en sens inverse dans les canalicules intacts en constituant ainsi des stries secondaires qui paraissaient naître du hile; l'introduction directe de spores dans les uretères lui a permis de vérifier l'exactitude de cette interprétation. L'urine n'était plus sanguinolente mais simplement albumineuse. L'auteur a noté enfin la présence de nombreux cristaux en aiguilles, réunis par touffes, qu'il a soupçonnés être de la tyrosine.

Dans des cas analogues, Klissitch a vu que la plupart des glomérules étaient entièrement remplis par les filaments et qu'autour d'eux se manifestait une réaction leucocytaire intense avec chromatolyse des noyaux. Les capillaires, les veines et les tubes participaient à cette invasion parasitaire tandis que le tissu interstitiel se montrait non moins infiltré de leucocytes.

Si l'on ensemence dans des tubes de décoction de pain gélosée, ou sur milieu Binot, un petit fragment de rein, recueilli aseptiquement, on recouvre en deux ou trois jours une nouvelle culture qui n'a rien perdu de ses propriétés virulentes.

Le passage et la germination des spores dans les tubes permet de supposer, a priori, que l'urine n'en est pas dépourvue. Leur présence n'y est cependant pas démontrée : admise par certains auteurs, elle est contestée par d'autres. Sur deux Lapins, morts trois jours après l'inoculation, nous avons prélevé directement dans la vessie une petite quantité d'urine qui a servi à un semis. Dans les deux cas nos tubes sont restés stériles.

2° Ganglions mésentériques. — Ainsi que les reins, ils sont invariablement hypertrophiés et très tuméfiés, quel que soit le mode d'inoculation suivi. Sur une coupe ils présentent la même coloration rouge brune, d'apparence hémorrhagique.

Au microscope, les filaments mycéliens se montrent encore abondants, mais toutefois en proportion plus faible que dans l'organe précédent. Par contre les spores sont nombreuses et plusieurs d'entre elles manifestent les premiers stades de la germination et envoient des prolongements dans différentes directions ; certaines ont déjà provoqué un appel de leucocytes et sont incluses

dans d'énormes cellules géantes. Il existe en outre des zones considérables de nécrose aussi bien dans les follicules clos que dans les cordons folliculaires. Enfin, des débris cellulaires flottent dans tout l'organe et sont l'indice d'un processus inflammatoire des plus intenses qui est également accusé par la présence, dans les follicules clos, d'éléments cellulaires en nombre anormal (globules rouges nucléés, cellules éosinophiles, leucocytes polynucléaires).

3° Intestin. — Nous avons mentionné ci-dessus que l'infection des Lapins par les veines déterminait, avant leur mort, une diarrhée intense. Aussi l'intestin de ces animaux est-il rarement indemne. A l'autopsie, les anses sont rouges, souvent recouvertes par une pseudo-membrane fibrineuse qui les rend adhérentes au péritoine.



Fig. 11. — Rate du Lapin avec spores de *M. corymbifer* au début de leur germination.

Les lésions siègent principalement au niveau des plaques de Peyer, soit à la partie inférieure de l'intestin grêle, soit à l'intérieur de l'appendice cœcal renfermant toujours une certaine quantité d'un liquide visqueux. Dans les cas aigus quelques-unes de ces plaques seulement sont hypertrophiées et saillantes; les autres n'offrent rien de particulier. Lichtheim, qui a plus particulièrement étudié ces lésions, a observé que la muqueuse était recouverte, par places, d'une couche sanguinolente dont l'enlèvement mettait à nu une surface ulcérée, et il arrive à admettre une certaine analogie entre ces altérations de l'intestin et celles remarquées dans la fièvre typhoïde. L'aspergillose ne présente rien de semblable.

L'appareil folliculaire de l'intestin, comme les ganglions mésentériques, renferme des spores, en plus ou moins grand nombre, incluses ou non dans des phagocytes. Le mycélium peut également

s'y développer ; il envahit alors tout le follicule et les filaments arrivent à traverser les couches séreuses et musculaires.

4° Rate. — De même que dans l'aspergillose, elle est généralement normale comme aspect et comme volume ; quelquefois elle apparaît tuméfiée et alors sa coloration est plus foncée. On ne constate jamais la présence de filaments, mais les spores y sont à divers état de germination (fig. 11). C'est même dans la rate qu'il est relativement facile d'observer les formes étoilées, décrites par Lichtcheim puis signalées par Lucet et Costantin, formes qui ressemblent vaguement à l'actinomycose à son début.

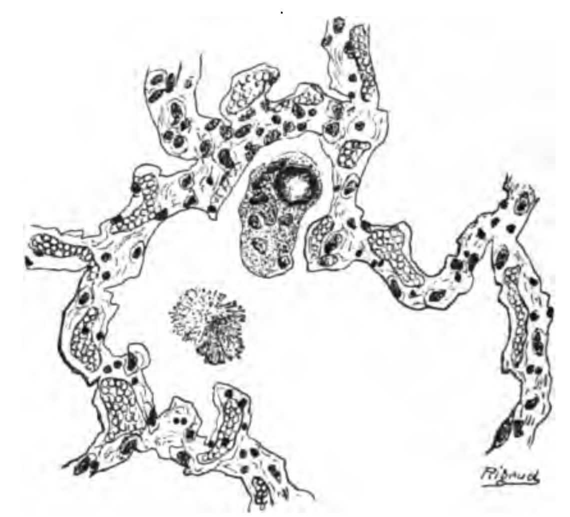


Fig. 12. — Poumon de Lapin avec spore de *M. corymbifer* incluse dans un phagocyte et cristaux de tyrosine.

5° Foie. — Contrairement à ce qui se passe dans l'aspergillose, cet organe est peu touché chez le Lapin, et les lésions, quand elles existent, ne sont jamais considérables. Le mycélium se développe avec peine dans les espaces interlobulaires où il détermine quelques processus inflammatoires qui restent toujours localisés au voisinage du parasite.

Nous rappelons que dans l'aspergillose le foie, fortement congestionné et très volumineux, est le siège d'innombrables granulations (Lucet).

6° Poumon. — Quand les inoculations ont lieu dans les veines,

les mycoses expérimentales ne déterminent guère de lésions pulmonaires ; les Mucorinées ne font pas exception à cette règle générale. Quelquefois cependant il apparaît, dans le poumon, de la congestion localisée en îlots avec ecchymoses sous-pleurales ou intéressant un lobe tout entier ; celui-ci est, dans ce cas, marbré de taches noires. Cet aspect serait dû à d'abondantes hémorrhagies capillaires infiltrant le tissu pulmonaire et pouvant être attribuées à la rupture des vaisseaux sous l'action des spores ; la germination de ces dernières amènerait l'altération des parois vasculaires qui, finalement, se rompraient sous la pression sanguine (Lucet et Costantin).

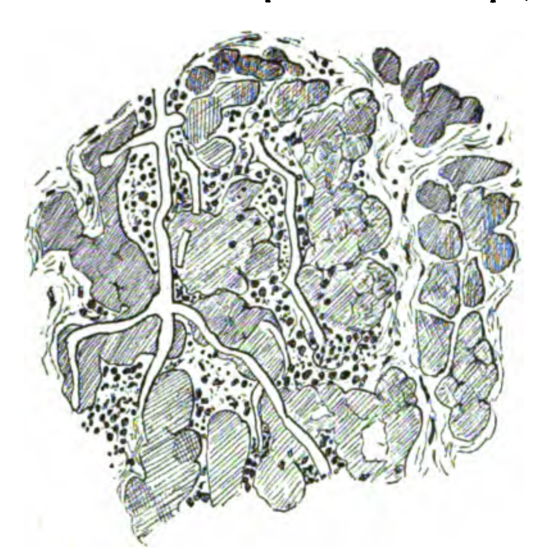


Fig. 13. — Mucormycose des muscles chez le Lapin : psoas dont les fibrilles sont dissociées par les filaments du *M. corymbifer*.

Nous nous sommes rendu compte que la végétation mucorienne est, en effet, peu florissante dans le poumon. Les spores germées ne se rencontrent qu'en quelques points où il est possible d'observer tous les caractères d'une pneumonie desquamative. Dans les premiers stades de l'infection, ou mieux lorsque les Lapins succombent rapidement, on constate avec la plus grande facilité le passage des spores des capillaires dans les alvéoles. Ici, comme dans la rate, ces spores sont généralement gonflées et englobées par des phagocytes. Dans tout l'organe il existe de nombreux cristaux, paraissant être de la tyrosine, analogues à ceux observés par Lichtheim dans le rein de ses animaux (fig. 12).

L'injection de spores virulentes dans la trachée des Oiseaux, pratiquée par Stange, provoqua de l'hépatisation pulmonaire dont le degré était en rapport avec la quantité de spores introduites.

Plus l'injection était faible, moins ce phénomène était apparent. A l'examen microscopique, les régions altérées se montraient traversées par de nombreux filaments mycéliens, envahissant à la fois les alvéoles et les bronchioles et déterminant quelques phénomènes inflammatoires. Les sacs à air étaient tapissés par un dépôt fibrineux qui renfermait les mêmes filaments.

7° Muscles. — Les lésions musculaires ne sont pas fréquentes et nous ne les avons observées qu'une seule fois dans les muscles abdominaux où elles présentaient l'aspect de taches blanchâtres. Ces taches, de la grosseur d'une tête d'épingle, étaient soit superficielles, soit disséminées à l'intérieur du tissu. Histologiquement, elles correspondaient à des foyers de mycélium, et les filaments, en voie de développement, exerçaient une véritable dissociation des fibrilles musculaires dont ils déterminaient la dégénérescence vitreuse avec réaction inflammatoire et infiltration leucocytaire consécutive (fig. 13). Cette observation a été faite sur le muscle psoas d'un Lapin, mort 60 heures après l'inoculation.

Le muscle cardiaque, souvent atteint dans l'aspergillose, ne renfermait dans le même cas, que quelques spores isolées à l'intérieur des capillaires ou entre les fibres musculaires.

8° Système osseux. — Les spores des Mucorinées peuvent pénétrer dans la moelle des os où elles donnent du mycélium, surtout quand on les injecte dans les veines (Lichtheim).

Méthodes de recherches dans les organes. Technique des colorations.

D'une manière générale la recherche des filaments mycéliens au sein des lésions, peut se faire directement en écrasant un fragment d'organe et en traitant pendant quelques minutes la pulpe ainsi obtenue par une solution aqueuse de potasse à 20 ou 25 pour 1.000 : les filaments apparaissent en clair sur un fond plus coloré.

Mais lorsqu'on veut avoir de belles préparations, et surtout si l'on se propose d'observer les rapports qui existent entre le Champignon et les tissus qu'il a envahis, ainsi que les lésions cellulaires qu'il a provoquées, il est indispensable de recourir à une fixation préalable puis à une méthode de coloration qui diffère suivant les auteurs et suivant la nature du parasite.

Pour l'étude des mucormycoses en particulier, la fixation des éléments par le sublimé acétique permet d'obtenir de très bonnes coupes. Il est avantageux cependant de suivre la technique recommandée par Dominici pour l'étude du système hématopoïétique (1) : les organes, recueillis aussitôt après la mort, sont divisés en petits fragments, plongés pendant trois heures environ dans une solution hydro-alcoolique de bi-chlorure de mercure, iodo-chlorurée-iodée, lavés à l'eau distillée, puis passés successivement dans les alcools à 60, 90° et 95°, et finalement dans l'alcool absolu. On termine l'opération par une inclusion dans la celloïdine et on pratique des coupe minces par l'un des procédés usuels.

Pour ce qui concerne la coloration des préparations, la plupart des auteurs, qui se sont occupés pratiquement des mucormycoses, ont déjà signalé la difficulté, et même l'impossibilité qu'ils ont éprouvée dans leurs diverses tentatives. Lichtheim, puis Lindt, en utilisant soit les bleus de méthylène et d'aniline, soit l'hématoxyline acide d'Ehrlich, ne sont pas arrivés à .colorer les filaments mycéliens d'une façon convenable. Par contre, Lucet et Costantin, dans leur étude sur le *Rhizomucor parasiticus*, disent s'être servis avec avantage du bleu d'aniline, du carmin et surtout de la thionine phéniquée dont l'usage a été préconisé par Rénon à propos de l'aspergillose. Nous devons avouer que l'emploi de tous ces réactifs ne nous a fourni que des colorations imparfaites ou nulles. Nous ajouterons que ces insuccès ne nous ont pas surpris, étant donnée la résistance bien connue des hyphes mycéliennes en général à l'action des matières colorantes en usage dans les laboratoires d'anatomie pathologique. La méthode de Gram n'est pas meilleure, car à chaque essai nos Champignons étaient complètement décolorés. Enfin, nous ne dirons rien des procédés recommandés par Léger (2), sinon qu'ils ne sont guère applicables aux recherches d'histologie animale.

Dans son mémoire sur les mucoro-mycoses, Klissitch a fait connaître une méthode de coloration dont il semble être satisfait. Son réactif, à base de safranine, se prépare en mélangeant 2 parties

(1) Dominici, Sur une méthode de technique histologique appropriée à l'étude du système hématopoïétique. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, p. 221, 1902.

(2) M. Léger, *Recherches sur la structure des Mucorinées*. Thèse de sciences, Paris, 1895.

d'huile d'aniline avec 100 parties d'eau distillée puis en ajoutant 2 parties de safranine en poudre : on chauffe le mélange à 60° et on filtre. Avec cette safranine anilinée les coupes sont traitées de la facon suivante : « 1° elles sont plongées d'abord dans le réactif, à froid pendant 15 à 20 heures, ou à chaud jusqu'à apparition de vapeurs ; 2° on lave à grande eau ; 3° on élimine l'excès de colorant au moyen d'une solution aqueuse d'acide acétique à 1 p. 500 que l'on fait agir pendant 4-5 secondes ; 4° on lave de nouveau à l'eau pendant 2-3 minutes ; 5° on porte alors la préparation dans le bleu de Löffler dilué (2/3 de bleu et 1/3 d'eau distillée) pendant 5 minutes environ ; 6° on termine par un dernier lavage à l'eau. Après déshydratation et passage dans l'alcool absolu, puis dans le xylol, on monte dans le baume du Canada. Les spores et les filaments mycéliens doivent être colorés en rouge tandis que les tissus sont colorés en bleu. »

Ce procédé ne nous a guère mieux réussi que les précédents. Aussi avons-nous fait plusieurs tentatives dans l'espoir de trouver un colorant électif des filaments mycéliens.

Parmi les réactifs essayés, le bleu de toluidine nous a donné d'assez bons résultats. On commence par colorer le fond de la préparation au moyen d'une solution aqueuse d'éosine et d'orange qui se fixe également sur les globules sanguins ; on enlève ensuite l'excès de réactif par l'alcool à 60°, puis on plonge la coupe pendant 4-5 minutes dans une solution aqueuse à 2 °/₀ de bleu de toluidine ; on décolore de nouveau par l'alcool à 60°, on déshydrate et on monte dans le baume. — On obtient ainsi d'assez belles préparations dans lesquelles les filaments paraissent en violet plus ou moins foncé sur un fond rosé.

Le bleu Victoria pourrait être substitué au bleu de toluidine, mais les Champignons sont un peu moins colorés. La solution de Kernschwartz serait également utilisable, mais le protoplasme seul du parasite prend la matière colorante tandis que sa membrane reste complètement incolore.

Enfin, nous avons eu l'idée d'employer, comme réactif microchimique de la membrane mucorienne, un composé minéral dont l'usage en histologie végétale a été recommandé par Mangin (1).

(1) L. Mangin, Observations sur la membrane des Mucorinées. *Journal de Botanique*, XIII, p. 212, 1899.

La membrane des Mucorinées renfermant une assez grande proportion de principes pectiques, Mangin pensa qu'il pourrait les mettre en évidence au moyen du rouge de ruthénium dont il venait de faire connaître la sensibilité par une note précédente (1). Ce nouveau composé, qui fut découvert et préparé par Joly (2), est l'oxychlorure ammoniacal de ruthénium $[Ru^2 (O H)^2 Cl^4 (AzH^3)^7 + H^2 O]$; il est très soluble dans l'eau et se rapproche par sa constitution même des colorants basiques. Sa puissance colorante est comparable à celle des couleurs d'aniline, sur la plupart desquelles il présente l'avantage d'être insoluble dans l'alcool. Il faut s'en servir en solution aqueuse neutre, et comme le composé se réduit assez rapidement, il est préférable de ne préparer cette solution qu'au moment du besoin, en ayant la précaution de la renouveler aussitôt qu'on y voit apparaître un précipité noir dû à la précipitation de l'oxyde de ruthénium.

Pratiquement, on obtient une quantité suffisante du colorant en plaçant dans un verre de montre, contenant 5 à 10 centimètres cubes d'eau distillée, quelques cristaux de rouge de ruthénium formant le volume d'un grain de millet ; la dissolution s'opère instantanément et le liquide prend une belle teinte pourpre.

Pour colorer les coupes au moyen de ce réactif, on les plonge pendant 2 à 3 minutes dans la solution, sans jamais les déshydrater au préalable ; la matière colorante se fixe à la fois sur les filaments qui prennent une teinte rouge plus ou moins foncée et sur les noyaux des tissus environnants qui apparaissent en rose clair. On peut alors, et seulement à ce moment, déshydrater la préparation et la monter dans le baume (3).

Les résultats fournis par cette méthode de coloration sont très suffisants, aussi la recommandons-nous, au même titre que le bleu de toluidine, pour les futures recherches histologiques se rapportant à l'étude des Mucorinées.

(1) L. Mangin, *Compt. rend. de l'Acad. des sciences*, CXVI, p. 653, 1893.

(2) Joly, *Ibidem*, CXV, p. 1299, 1892.

(3) Nous devons à l'obligeance de notre ami Guérin, professeur agrégé à l'École supérieure de pharmacie, la petite quantité de rouge de ruthénium qui a été utilisée dans nos essais.

Virulence et essais d'immunisation.

De même que pour les *Aspergillus,* quelques auteurs ont essayé d'obtenir une atténuation de la virulence des spores ou une immunisation des animaux contre l'infection mucorienne. Toutes ces tentatives ont eu lieu, soit avec le mycélium ou les spores soumis à l'action de la chaleur ou modifiés par le temps, soit en utilisant les produits solubles qui peuvent exister dans le mycélium. Malgré l'insuccès de ces recherches, elles présentent cependant un certain intérêt car elles montrent, d'une part, que les diverses Moisissures, quoique séparées par les caractères botaniques, agissent d'une façon comparable, de l'autre, elles confirment la différence, déjà connue, entre le mode d'action de ces Champignons et celui des Bactéries.

Spores modifiées. — Les premières expériences de cette nature ont été entreprises en 1886 par Ziegenhorn (1) sous la direction de Lichtheim. L'auteur se proposa d'affaiblir ou même de détruire, au moyen de la chaleur, la virulence des spores du *Rhizopus Cohni* et à cet effet il eut recours successivement à plusieurs méthodes.

En premier lieu il pensa ariver à un résultat en portant le mycélium seul à une température élevée, voisine du point de stérilisation, et il s'adressa à un des organes déjà envahis par le parasite dans l'espoir que ces organes ne contiendraient que du mycélium, à l'exclusion de toute spore. Il commença donc par tuer un Lapin au moyen d'une inoculation dans la veine jugulaire, puis il enleva les reins de l'animal et il les découpa en tranches de 3 millimètres d'épaisseur qu'il plongea dans de l'eau stérilisée, maintenue à une température de 63°, et cela pendant un temps variable pour chacune d'elles de 1, 2, 3, 4...., 15 minutes; ces tranches de rein furent ensuite étalées sur du pain stérilisé et portées à l'étuve à 37°. Après 24 heures, l'auteur observa que les 8 premières tranches, c'est-à-dire celles qui avaient subi l'action de la chaleur pendant 1 à 8 minutes, étaient seules capables de donner du mycélium, tandis que les autres restaient complètement stériles.

La huitième culture, la dernière par conséquent qui fût encore fertile, et qui provenait d'un mycelium se trouvant à la limite de

(1) O. Ziegenhorn, Versuche über Abschwächung pathogener Schimmelpilze. *Arch. für experim. Path. und Pharm.*, XXI, p. 249, 1886.

la stérilisation, servit à inoculer un nouveau Lapin qui mourut au bout de 8 jours, après avoir présenté les symptômes et les lésions habituelles.

Les reins de ce deuxième animal furent, comme ceux du premier, divisés en tranches et soumis alors, non plus à une température constante pendant des temps différents, mais à des températures régulièrement croissantes de 60, 62, 64..., 76 degrés durant le même laps de temps, soit 2 minutes. Chacune de ces tranches fut à son tour ensemencée sur du pain, et l'auteur constata qu'au-dessus de 68° la stérilisation avait été complète. Il utilisa enfin pour une troisième et une quatrième inoculations, la culture qui avait subi la température maxima de 68° et il obtint encore la mort des deux Lapins contaminés.

Ziegenhorn reconnaît lui-même, dans son mémoire, qu'une sérieuse objection peut être faite à sa manière de procéder. C'est qu'en effet, si les Moisissures ne peuvent pas fructifier au sein des tissus animaux, il faut bien admettre que toutes les spores injectées, et nous l'avons nous-même souvent observé, ne germent pas forcément dans les organes. Aussi les expériences précédentes s'appliquaient-elles à la fois au mycélium et à un certain nombre de spores qui avaient résisté aux diverses températures auxquelles l'auteur pensait soumettre le mycélium seul. En réalité chaque nouvelle culture dérivant d'un fragment de rein provenait donc, non seulement de ce mycélium plus ou moins modifié, mais encore de spores absolument intactes.

Tenant compte de ces considérations, Ziegenhorn fut amené à suivre une autre méthode. Des tubes à réactifs étaient remplis d'une infusion de pain, soigneusement stérilisés, puis ensemencés avec des spores de *Rhizopus Cohni*. Après une agitation préalable, qui permettait de répartir uniformément les spores dans le liquide, la moitié supérieure de chaque tube était soumise à une ébullition répétée, de façon à empêcher la fructification, qui n'aurait pas tardé à se montrer à la surface du milieu nutritif, sans atteindre toutefois le mycélium qui prenait naissance dans ses parties inférieures. Ce chauffage fut renouvelé d'abord toutes les 6 ou 8 heures, puis toutes les 12 heures et enfin toutes les 24 heures. Au bout de quelques jours, les cultures, parfaitement stériles à leur partie supérieure, furent abandonnées dans une étuve à 44°5,

c'est-à-dire à une température aussi voisine que possible de la température maxima à laquelle cesse la croissance du Champignon. Dans ces conditions elles fournirent péniblement un mycélium qui finit par atteindre la surface du liquide où il donna des sporanges. Or les spores que ces derniers renfermaient avaient conservé toute leur virulence. Mais, là encore, l'auteur se demanda s'il ne subsistait pas, dans les parties inférieures des tubes, quelques-unes des spores primitives, qui, ne germant qu'à la fin de l'expérience, venaient ainsi en fausser les résultats.

Dans ces conditions, Ziegenhorn, renonçant à ses essais sur les mycéliums, tenta d'atténuer directement l'action virulente des spores du *Rhizopus Cohni*. Il prépara une riche suspension de spores dans de l'eau stérilisée, et la répartit entre un certain nombre de tubes en verre qu'il ferma à la lampe. Ceux-ci furent ensuite plongés dans de l'eau chaude, les uns pendant le même temps à des températures variant pour chacun d'eux de 60° à 86°, les autres au contraire à une même température mais en faisant varier la durée de l'exposition. Les tubes ainsi obtenus servirent d'abord à un ensemencement de contrôle puis à des inoculations intraveineuses sur des Lapins.

L'auteur constata que le point de stérilisation, se rapportant aux spores, était compris entre 67° et 69° et correspondait exactement à celui qu'il avait déterminé dans ses premières tentatives. Il remarqua en outre que les liquides portés à une température voisine, mais inférieure, à cette limite extrême, renfermaient des spores qui étaient encore susceptibles de germer tandis qu'elles restaient inactives sur les animaux inoculés. Ces derniers cependant, sacrifiés après plusieurs jours, montraient, çà et là, dans leurs organes, quelques foyers mycéliens.

Il semblait donc que l'action d'une température maxima se manifestait nettement, sur les spores, par la perte de leur pouvoir pathogène. Mais malheureusement ce résultat n'était qu'apparent car les spores provenant des cultures de contrôle avaient conservé entière leur virulence primitive. Il faut admettre, dans ce cas, que toutes les spores d'un même tube n'étant pas tuées à la même température, leur nombre allait diminuant à mesure qu'on s'approchait de 67° où il n'en subsistait qu'un petit nombre, toujours capable de germer, il est vrai, pour donner une nouvelle culture,

mais insuffisant pour provoquer la mort des animaux : le résultat des recherches de Ziegenhorn était donc, en réalité, absolument négatif.

En 1900, Lucet et Costantin ont essayé, sans mieux réussir, de modifier l'action pathogène du *Rhizomucor parasiticus*. Ils inoculèrent simultanément deux Cobayes dans le péritoine, l'un avec des spores provenant d'une culture à 28°, l'autre avec une culture faite à 52°-53° (6e génération). Huit jours après l'inoculation, et à quelques heures seulement d'intervalle, les deux animaux moururent. L'autopsie révéla la présence des lésions ordinaires produites par le Champignon, mais chez le deuxième Cobaye elles étaient moins évidentes. Des fragments de tissus, ensemencés sur un tube de Carotte, donnèrent une culture pure de *Rhizomucor*.

Leur expérience prouve que la chaleur, au moins à 52°-53°, même au bout de six générations successives à cette température, n'atténue pas le *Rhizomucor parasiticus*.

L'influence de l'âge sur la virulence des spores des Moisissures pathogènes en général, et des Mucorinées en particulier, paraît être également négligeable.

Nous avons eu cependant l'occasion d'inoculer un Lapin, dans les veines, avec des spores de *Mucor corymbifer* âgées d'un an environ et l'animal ne succomba qu'au sixième jour. De son côté Rénon, en comparant la virulence de spores jeunes d'*Aspergillus fumigatus* avec des spores datant de trois années, a obtenu la survie des animaux injectés avec les vieilles spores, même quand le pouvoir germinatif de ces dernières était parfaitement démontré par une culture concomitante. Cet auteur a pensé qu'il s'agissait bien dans ce cas d'une véritable atténuation, mais nous croyons que son opinion est des plus contestables. Si on tient compte en effet que les spores provenant de vieilles cultures germent d'autant plus lentement qu'elles sont plus âgées, on comprend que cette atténuation n'est qu'apparente, car elle est due plutôt à l'impossibilité où se trouve la majorité de ces spores de donner des filaments au sein des organes. La résistance des animaux s'explique alors naturellement, la petite proportion de mycélium formé étant insuffisante pour déterminer des lésions mortelles.

En définitive, il résulte de ces diverses expériences que la chaleur agissant directement sur le mycélium ou sur les spores, ainsi que

l'âge plus ou moins avancé des cultures, n'apportent aucune modification sensible aux propriétés pathogènes des spores mucoriennes.

Toxines.— Étant donnée la rapidité avec laquelle certaines Mucorinées provoquent la nécrose des éléments histologiques et causent la mort des animaux, il était naturel de supposer qu'à l'action traumatique du parasite venait s'ajouter une sorte d'intoxication aiguë produite par une substance soluble. Il était donc intéressant de s'assurer si au cours de leur développement, in vitro, ces Champignons n'élaboraient pas quelque toxine extra ou intra-cellulaire.

Malheureusement, la difficulté que nous avons éprouvée pour cultiver, sur milieux liquides, le *Mucor corymbifer*, nous a empêché d'entreprendre des recherches semblables à celles de Kotliar et de Lucet sur l'*Aspergillus fumigatus*. Mais, s'il nous a été impossible de déceler les produits excrétés dans le substratum, nous nous sommes efforcé d'obtenir, à l'état de solution, les toxines que le mycélium, lui-même, pouvait contenir.

Dans une première expérience le *M. corymbifer* était cultivé, sur milieu sucré Binot, dans un large cristallisoir couvert. Après 48 heures d'exposition à l'étuve à 37°, le mycélium avait envahi toute la surface du substratum et était parvenu à son optimum de développement. A ce moment il était facile, à l'aide d'une pince fine, d'enlever le Champignon en totalité, puis de le peser et de le triturer dans un mortier,d'abord isolément, et enfin en présence de quelques centimètres cubes d'eau distillée destinée à dissoudre les principes solubles. Cette manipulation nous a procuré un liquide épais, d'une couleur brun-grisâtre, que nous avons filtré à la bougie.

La masse du Champignon pesait 8 gr. 50 et la solution obtenue, claire mais faiblement teintée de brun, mesurait 8 cmc 2. Nous injectâmes cette solution dans la veine auriculaire d'un Lapin en réservant toutefois, dans la seringue, quelques gouttes du liquide qui servirent à ensemencer un tube de contrôle ; celui-ci demeura complètement stérile.

L'animal inoculé pesait 2,100 gr. au moment de l'inoculation. Pendant les premières 24 heures qui suivirent, il parut légèrement abattu, mangea moins et éprouva même un faible amaigrissement, car huit jours après il avait perdu 150 gr. Mais ces symptômes ne persistèrent pas et à la fin de la semaine suivante il avait regagné son poids primitif.

Au cours de cette expérience nous avons constaté la presque impossibilité d'amener les filaments mycéliens à un état de désagrégation complète. On pouvait, par suite, nous objecter que la majeure partie des produits solubles échappait ainsi à l'action directe du dissolvant. Aussi, l'avons-nous répétée en ajoutant dans le mortier, au moment de la trituration, une petite quantité de sable fin préalablement lavé, séché et stérilisé. Grâce à cette addition le mycélium a pu atteindre un ultime degré de division. Le poids du Champignon était de 9 gr. 40 et le liquide filtré, mesurant 8 cmc 3, fut injecté à un nouveau Lapin. Cet animal ne se comporta pas d'abord autrement que le premier, mais il mourut trois semaines plus tard d'une infection secondaire ; son autopsie ne révéla aucune des lésions spéciales aux mucormycoses.

D'autre part, il y avait lieu de rechercher, si un animal qui avait reçu dans les veines pareille solution était immunisé contre une future inoculation virulente ?

Pour répondre à cette question, le Lapin soumis à notre première inoculation, le seul resté vivant, fut injecté, 40 jours après, avec 3 cmc d'une suspension ordinaire de *Mucor corymbifer*, tandis qu'un Lapin témoin recevait la même dose de liquide sporifère. Le résultat ne se fit pas attendre : en moins de 36 heures les deux animaux avaient succombé.

Ces expériences, encore très imparfaites nous le reconnaissons, prouvent néanmoins que, s'il existe chez le *Mucor corymbifer* des produits solubles intra-cellulaires, ou bien ils sont retenus par la bougie filtrante, ce qui est peu probable, ou bien leur toxicité est nulle à l'égard des Lapins dont l'immunisation reste encore à obtenir. Elles apportent ainsi une nouvelle confirmation à l'opinion généralement admise, à savoir que le mode d'action des Moisissures pathogènes est différent de celui de la plupart des Bactéries, puisqu'elles agissent principalement par traumatisme direct.

Considérations générales sur les mucormycoses expérimentales.

L'étude des mucormycoses expérimentales, comme celle des mycoses en général, soulève un certain nombre de problèmes auxquels il est difficile, actuellement, d'apporter une solution

rationnelle et définitive. En tenant compte des faits observés, et des rapprochements pouvant être établis, nous croyons qu'il est possible d'émettre à leur sujet quelques hypothèses qui s'accordent d'ailleurs avec les résultats acquis. Il était également indiqué de comparer, dans ce chapitre, ne fut-ce que sommairement, les deux variétés de mycoses expérimentales.

La première question qui se pose concerne la virulence. Il est naturel en effet de se demander pourquoi telle espèce est pathogène, tandis que telle autre est inoffensive, et à quels caractères particuliers il convient d'attribuer la virulence très grande de certaines spores.

On remarque d'abord que toutes les Mucorinées pathogènes possèdent des spores dont les dimensions sont très réduites (2 à 6 μ), et toujours plus petites que les hématies. On s'explique dès lors comment elles peuvent accompagner ces derniers dans leur course à travers l'organisme et pénétrer avec eux dans les capillaires les plus fins. Par contre, les espèces à grosses spores (*Mucor mucedo*, *Rhizopus nigricans*) n'offrent aucun danger, même quand elles sont directement introduites dans le torrent circulatoire. Il est donc probable qu'il y a là, entre le volume des spores et leur virulence, une relation de cause à effet.

A propos de l'aspergillose, les auteurs ont mis suffisamment en lumière le rapport étroit qui existe entre le pouvoir pathogène de plusieurs *Aspergillus*, et la température élevée à laquelle ils se développent. Or, cette coïncidence se présente aussi pour les Mucorinées nocives, leur optimum de croissance oscillant entre 36° et 40°, températures voisines ou identiques à la température normale de l'organisme. Inversement, les espèces saprophytiques ordinaires végètent de préférence à des températures beaucoup plus basses ; elles ne sont pas dangereuses.

Nous avons déjà signalé, d'autre part, la faculté que possèdent les petites spores virulentes de se laisser mouiller et par suite d'entrer facilement en suspension dans les solutions aqueuses, tandis que les spores du *Mucor mucedo* et du *Rhizopus nigricans* opposent une résistance qu'on ne surmonte que difficilement dans la préparation des liquides d'injection.

Il est possible, en outre, que d'autres considérations, à peine entrevues et toujours d'ordre physique, influent sur la germination

des spores dans les organes. Lesage (1), entre autres, a montré l'impossibilité où se trouvait le *Penicillium glaucum* de germer et de se développer quand l'état hygrométrique ne s'y prête pas. De pareilles recherches, appliquées aux Mucorinées, apporteraient peut-être la solution du problème qui nous préoccupe ?

Il résulte toutefois des constatations que nous venons de mentionner qu'au point de vue expérimental, le pouvoir pathogène d'une espèce mucorienne semble exiger, pour se manifester, la réalisation de cette triple condition : petitesse des spores, germination et végétation intensives à la température de l'organisme, suspension facile au sein des liquides d'injection. Il est moins commode de donner une explication plausible à la préférence marquée des Mucorinées à l'égard de tel ou tel organe ?

La mort rapide des animaux inoculés suscite un deuxième problème, celui de définir à quelle cause immédiate cette mort doit être rapportée : nous n'entreprendrons pas de le résoudre. Il est vraisemblable que cette mort n'est pas due à l'élaboration, par le Champignon, d'une toxine au milieu des tissus ; et cependant, la néphrite aiguë constatée chez nos Lapins ne paraît-elle pas consécutive à la dissémination, dans tout le rein, de quelque produit soluble ? Le traumatisme exercé par le mycélium est-il capable de provoquer, seul, les phénomènes nécrotiques dont nous avons remarqué la constance ? Ce qui est certain, c'est que cette nécrose des éléments histologiques, jointe aux réactions leucocytaires, ne tardant pas à survenir, détermine dans les organes, où le parasite s'est développé, une perturbation considérable qui retentit sur toutes les fonctions.

Ainsi que le fait observer Kotliar (2), encore à propos de l'aspergillose, la mort n'est pas l'effet d'une infection par les Bactéries qui pullulent dans l'intestin des animaux et qui deviennent capables de pénétrer dans l'économie une fois que celle-ci a été affaiblie par l'invasion du Champignon. L'opinion de cet auteur peut parfaitement s'appliquer aux Mucorinées, aussi est-il permis de supposer que les animaux succombent à une asphyxie des

(1) LESAGE, *De la possibilité de quelques mycoses dans la cavité respiratoire basée sur l'hygrométrie de cette cavité*. Thèse de Paris, 1899.

(2) KOTLIAR, *Loco citato*.

tissus, c'est à dire à un phénomène de concurrence vitale de lutte pour l'oxygène.

Quant au parallèle pouvant être établi entre les mucormycoses et l'aspergillose, nous dirons qu'à côté d'analogies très réelles, surtout en ce qui concerne leur mode d'action, il existe des dissemblances non moins marquées.

Le siège des lésions les plus importantes serait à la rigueur amplement suffisant pour distinguer les deux variétés de mycose : celles que nous avons décrites atteignant surtout le rein, les ganglions mésentériques, l'intestin au niveau des plaques de Peyer, les muscles, le foie, le cœur, la rate, le poumon ; l'aspergillose, au contraire,frappant, par ordre de fréquence, le rein et le foie, la rate et le cœur, le poumon, le tissu musculaire, les parois de l'intestin (Lucet). D'un autre côté la rareté, dans les mucormycoses, de pseudo-tubercules et de lésions comparables à celles du Bacille de Koch, l'existence d'une néphrite généralisée, l'intégrité presque complète du foie, sont autant d'excellents caractères qui permettent de compléter ce tableau comparatif.

CONCLUSIONS

1° Les mycoses produites par les Moisissures se rangent naturellement en deux groupes qui se différencient non seulement par l'origine botanique de l'agent pathogène, mais encore par leur importance clinique, par le siège habituel et par quelques caractères des lésions obtenues expérimentalement. Les unes, ou aspergilloses, sont déterminées par un *Aspergillus*; les autres, ou mucormycoses, sont dues à une MUCORINÉE.

2° Les espèces mucoriennes dont la virulence nous paraît suffisamment établie sont : le *Mucor corymbifer*, le *M. ramosus*, le *M. Truchisi*, le *M. Regnieri*, le *M. pusillus*, le *Rhizomucor parasiticus*, le *Rhizopus Cohni*, et probablement le *Rhizomucor septatus* ? et le *Rhizopus niger*? L'existence simultanée de plusieurs d'entre elles, à la fois comme saprophytes et comme parasites de l'Homme, est absolument certaine.

3° Les observations probantes de mucormycoses spontanées sont encore peu nombreuses, aussi bien chez l'homme que chez les animaux. Les unes concernent les cavités naturelles et en parti-

culier le conduit auditif externe ; quelques autres se rapportent à des affections pulmonaires ; une seule enfin est relative à une infection généralisée. Dans plusieurs cas où la présence concomitante d'un autre Champignon (*Aspergillus* ou autre) a été signalée, il est impossible de préciser la part nocive qui revient à chacune des espèces ; il n'y a aucune raison majeure pour incriminer l'une plutôt que l'autre.

4° Le plus souvent les Mucorinées parasites se fixent et se développent sur un tissu déjà pathologiquement modifié. Il en est ainsi dans l'otomycose et dans les affections chroniques qui se compliquent de troubles profonds de la nutrition générale allant jusqu'à la cachexie ; le parasite ne joue alors qu'un rôle secondaire. Mais, dans quelques cas, il apparaît que l'invasion mycosique était vraisemblablement primitive et que les désordres observés doivent être attribués exclusivement à la présence du Champignon (Paltauf, Lucet et Costantin, et peut-être Podack).

5° Le diagnostic clinique ne sera sérieusement posé qu'après un examen microscopique, contrôlé par une série de cultures. Cette technique est indispensable pour déterminer la nature du parasite qui peut exister dans les tissus et dans les liquides pathologiques, soit à l'état de spores, soit à l'état de filaments mycéliens. La formation des appareils reproducteurs étant exceptionnelle et n'ayant lieu qu'en présence de l'air, il ne faut pas compter les rechercher dans les organes pour établir ce diagnostic.

6° Il est avantageux d'appliquer aux mucormycoses le traitement par l'arsenic et l'iodure de potassium recommandé en pareil cas contre l'aspergillose.

7° L'introduction de spores virulentes dans les veines du Lapin, du Cobaye et de la Poule, provoque plus ou moins rapidement la mort de ces animaux. La durée de la maladie dépend à la fois de l'espèce mucorienne et de la quantité de spores inoculées. Le Chien paraît réfractaire à l'infection.

8° Chez le Lapin, véritable réactif expérimental des Mucorinées, le Champignon ne se développe pas indifféremment dans tous les organes. Les lésions mucoriennes siègent par ordre de fréquence dans les reins qui sont toujours profondément affectés, puis dans les ganglions mésentériques, l'intestin, les muscles striés, le foie, le cœur, la rate, le poumon. L'aspergillose atteint au contraire, de

préférence, les reins et le foie, puis la rate, le cœur, le poumon, le tissu musculaire, l'intestin.

9° Dans les cas aigus, les lésions rénales se montrent surtout au niveau des tubes où le parasite végète en abondance ; ce sont les phénomènes de nécrose et de congestion qui prédominent. L'organe tout entier présente les caractères d'une néphrite généralisée dont l'absence au cours de l'aspergillose, jointe à la forme pseudo-tuberculeuse des lésions dans cette dernière affection, permet nettement de différencier les deux variétés de mycoses. Lorsque l'animal résiste plus longtemps les formations nodulaires apparaissent.

10° L'inoculation sous-cutanée de spores virulentes se traduit par une simple réaction leucocytaire. L'injection dans la trachée est restée sans effets, sauf chez les Oiseaux.

11° L'ingestion des mêmes spores est également inoffensive quand le tube digestif est indemne de toute lésion antérieure.

12° La virulence des spores est une propriété naturelle et spécifique. Elle ne subit aucune modification soit par leur chauffage direct à des températures voisines du point de stérilisation, soit par le chauffage, dans des conditions analogues, du mycélium d'où elles proviennent.

13° La recherche des produits solubles intra-myceliens, de même que les tentatives d'immunisation des animaux n'ont donné, jusqu'ici, aucun résultat appréciable.

14° Les mucormycoses ne sont pas directement contagieuses.

15° Enfin, l'expérimentation sur les *Mucor mucedo*, *M. racemosus*, *M. alternans* et *Rhizopus nigricans*, nous a prouvé que ces espèces étaient complètement inoffensives à l'égard des Lapins et des Cobayes.

BIBLIOGRAPHIE (1)

* A.-C. MAYER, Verschimmelung (*Mucedo*) im lebenden Körper. *Meckel's Deutsches Archiv für die Physiologie*, I, p. 310, 1815.

* C.-F. HEUSINGER, *De generatione mucoris in organismo animali vivente*. Iéna, 1821.

* A. HANNOVER, Ueber Entophyten auf den Schleimhäuten des todten

(1) Les ouvrages marqués d'un astérique sont ceux que l'auteur a directement consultés.

und lebenden menschlichen Körpers. *Müller's Archiv f. Anatom. u. Physiol.*, p. 281, 1842.

* CH. ROBIN, *Des végétaux qui croissent sur les animaux vivants*. Thèse de sciences, Paris, 1847.

SLUYTER, *De vegetabilibus organismi animalis parasitis ac de novo epiphyto in pityriasi versicolore obvio*. Inaug. Diss. p. 14, Berolini, 1847.

* CH. ROBIN, *Histoire naturelle des végétaux parasites*. Paris, 1853.

* G. FRESENIUS, *Beiträge zur Mykologie*. Frankfurt, 1850-1863.

* F. KÜCHENMEISTER, *Die in und an dem Körper des lebenden Menschen vorkommenden Parasiten*. Leipzig, 1855.

* R. VIRCHOW, Beiträge zur Lehre von den beim Menschen vorkommenden pflanzlichen Parasiten. *Virchow's Archiv*, IX, p. 557, 1856.

* W. KEFERSTEIN, Ueber parasitische Pilze aus *Ascaris mystax*. *Zeitschr. f. wissenchaft. Zoologie*, XI, p. 135, 1861-1862.

* FR. MOSLER, Mykologische Studien am Hühnerei. *Virchow's Archiv*, XXIX, p. 510, 1864.

* COHNHEIM, Zwei Fälle von Mycosis der Lungen. *Virchow's Archiv*. XXXIII, p. 167, 1865.

* E. HALLIER, *Die pflanzlichen Parasiten des menschlichen Körpers*, Leipzig, 1866.

* H. HOFFMANN, Ueber *Saprolegnia* und *Mucor*. *Botan. Zeitung*, XXV, p. 345 et 353, 1867.

* BAIL, Ueber Krankheiten erzeugende Pilze. *Wiener mediz. Wochenschrift*, p. 992, 1867.

* E. HALLIER, *Parasitologische Untersuchungen*. Leipzig, 1868.

J. BÖCKE, Zwei Fälle v. Pilzwucherungen am Trommelfelle. *Ungarischer med-chir. Presse*, 1869. — Ref. in *Monatsschr. f. Ohrenheilk*. III, 1869.

* S. RIVOLTA, *Dei parassiti vegetali come introduzione allo studio delle malattie parassitarie e della alterazioni dell' alimento degli animali domestici*. Turin, 1873.

* A. HILLER, Eine acute Pilzinvasion in das Statum mucosum der Haut, ausgehend von einer Onychomysis. *Berlin. klinische Wochenschr.*, p. 235, 1874.

* LEWIS et CUNNINGHAM, *The Fungus Disease of India*. Calcutta, 1875.

* P. FÜRBRINGER, Beobachtungen über Lungenmykose beim Menschen. *Virchow's Archiv*, LXVI, p. 330, 1876.

* GRAWITZ, Beiträge zur systematischen Botanik der pflanzlichen Parasiten. *Virchow's Archiv*, LXX, p. 546, 1877.

* O. BOLLINGER, Ueber Pilzkrankheiten niederer und höherer Thiere. *Aerztliches Intelligenz Blatt*, nos 9 et 11, 1880.

* GRAWITZ, Ueber Schimmelvegetationen in thierischen Organismus. Experimentelle Untersuchung. *Virchow's Archiv*, LXXXI, p. 355, 1880.

O. BOLLINGER, *Zur Aetiologie des Infectionskrankheiten mit besonder Berücksichtigung der Pilztheorie*. München, 1881.

* A. ZÜRN, *Krankheiten des Hausgeflügels*. Weimar, 1882.

* L. Lichtheim, Ueber pathogene Mucorineen und die durch sie erzeugten Mykosen des Kaninchens. *Zeitschr f. klin. Medicin*, VII, p. 140, 1884.

* W. Grohmann, *Ueber die Einwirkung des Zellenfreien Blutplasma auf einige pflanzliche Microorganismen*. Inaug. Diss., Dorpat, 1884

* Schütz, Ueber das Eindringen von Pilzsporen in die Athmungswege. *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte*, II, p. 208, 1884.

* A. Paltauf, Mycosis mucorina. *Virchow's Archiv*, CII, p. 543, 1885.

S. Rivolta, Mucorimyces çanis familiaris. *Giornale die anat. fisiol. e patol. degli animali*, 1885.

* H. Ribbert, Beiträge zur Localisation der Infectionskrankheiten *Deutsche mediz. Wochenschr.*, p. 717, 1885.

* A. Hückel, Zur Kenntniss der Biologie des *Mucor corymbifer*. *Beiträge zur path. Anat. und Phys. von Ziegler und Nauwerk*, I, p. 115, 1886.

* Bostroem, Demonstration mikroskopischer Präparate von Schimmelpilzen. *Berlin. klinische Wochenschr.*, p. 332, 1886.

* W. Lindt, Mittheilungen über eine neue pathogene Schimmelpilze. *Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmak.*, XXI, p. 269, 1886, et Inaug. Diss. Leipzig, 1886.

* O. Ziegenhorn, Versuch über Abschwächung pathogener Schimmelpilze. *Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmak.*, XXI, p. 249, 1886.

* H. Ribbert, *Der Untergang pathogener Schimmelpilze im Körper*. Bonn, 1887.

A. Ceci, *Mucormicosi in mano affecta da osteochondroma (mano di Madura)*. Genova, 1887. — Ref. in *Baumgarten's Jahresbericht*, IV, p. 300, 1888.

Hess, *Die Feinde der Biene im Thier und Pflanzenreiche*. Hannover, 1887. — Ref. in *Centralb. f. Bakt. u. Parasit.*, II, p. 190, 1887.

Bassini, Un caso di micetoma al piede o piede di Madura. — *Archivio per la Scienze mediche*, XII, p. 309, 1888. — Ref. in *Baumgarten's Jahresbericht*, IV, p. 299, 1888.

Jakowski, Otomycosis mucorina. *Gazeta Lekarska*, n° 34, 1888. — Ref. in *Centralb. f. Bakter. u. Parasit.*, V, p. 388, 1888, et VIII, p. 145, 1890.

* A. Zürn und H. Plaut, *Die pflanzlichen Parasiten auf und in dem Körper unserer Haussäugetiere*. Weimar, 1889.

* P. Schubert, Fadenpilze in der Nase. *Berliner klinische Wochenschr.*, n° 39, 1889.

* F. Siebenmann, *Die Schimmelmycosen des menschlichen Ohres*. Wiesbaden, 1889.

* F. Siebenmann, Neue botanische und klinische Beiträge zur Otomykose. *Zeitschr. für Ohrenheilk.*, XIX, p. 7, 1889.

* F. Siebenmann, Ein sweiter Fall von Schimmelmykose des Rachendaches. *Monatsschr. für Ohrenheilk.*, n° 4, 1889.

E. Obraszov und N. Petrov. Fall gleichzeitiger Aktinomykose und Schimmelmykose. *Aus Kasan. Russkaja Medicina*, n° 29, 1889. — Ref. in *Centralblatt f. Bakt. u. Parasit.* VII, p. 514, 1890.

* H. Graham, *Mucor corymbifer* in the external auditory meatus. *The Lancet*, II, p. 1379, 1890.

* A. CIAGLINSKI, Przyczynek do nauki o grzybnicach plesniowych. *Pamietnik Towarzystwa Lekarskiego Warszawskiego* (*Mémoires de l'Association médicale de Varsovie*), LXXXVI, p. 491, 1890 et LXXXVII, p. 457, 1891.

* FRANK, Eine mykotische Neubildung am Widerrist des Pferdes. *Wochenschr. f. Thierheilk. u. Viehzucht*, n° 2, 1890.

* P. BAUMGARTEN, *Lehrbuch der pathologischen Mykologie*. Braunschweig, 1890.

* P. RŒSER, Note sur un mode de contamination du pain par *Mucor stolonifer*. *Archives de méd. et pharm. milit.*, XV, p. 462, 1890.

* W. DUBREUILH, Des Moisissures parasitaires de l'Homme et des animaux supérieurs. *Archives de médecine expérimentale*, III, p. 428, 1891.

* F. SOULS, *Contribution à l'étude de l'Otomycose*. Thèse de Bordeaux, 1891.

* J. COSTANTIN, Note sur un cas de pneumomycose observé sur un Chat par M. Neumann. *Bull. de la Soc. mycol. de France*, VIII, p. 57. 1892.

* F. FRIEDBERGER und E. FRÖHNER, *Pathologie und Therapie der Hausthiere*. Stuttgart, 1892.

* L. NEUMANN, *Traité des maladies parasitaires non microbiennes des animaux domestiques*. Paris, 1892.

* G. STANGE, *Experimenteller Beitrag zur Pathogenität der Mucorineen*. Inaug. Diss., Dorpat, 1892.

* S. ARTAULT, *Recherches bactériologiques, mycologiques, zoologiques et médicales sur l'œuf de Poule et ses agents d'infection*. Thèse de Paris, 1893.

* A. CIAGLINSKI und O. HEWELKE, Ueber sogenannte die schwarze Zunge. *Zeitschr. f. klin. Medicin*, XXII, p. 626, 1893.

* J. SENDZIAK, Beitrage zur Aetiologie der sogen. schwarzen Zunge. *Monatsschr. f. Ohrenheilk.*, XXVIII, p. 112, 1894.

* V. HERLA, Note sur un cas de pneumomycose chez l'Homme. *Bullet. de l'Acad. royale de Belgique*, (4), IX, p. 1021, 1895.

* R. BLANCHARD, Parasites végétaux, in *Traité de pathologie générale de Bouchard*, II, 811, 1896.

* A. LUCET, *De l'Aspergillus fumigatus chez les animaux domestiques et dans les œufs en incubation*. Paris, 1897.

* L. RÉNON, *Etude sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'Homme*. Paris, 1897.

* M. PODACK, Zur Kenntniss des sogenannten Endothelkrebses der Pleura und der Mucormykosen im menschlichen Respirations-apparat. *Deutsches Arch. f. klin. Medic.* LXIII, n° 1, 1899.

* LUCET et COSTANTIN, Sur une nouvelle Mucorinée pathogène. *Compt. rend. Acad. Sciences*, CXXIX, p. 1031, 1899.

* R. KLISSITCH, Des mucoro-mycoses. *Archives russes de pathol., de médec. clin. et de bactér.*, VII, p. 576, 1899.

* LUCET et COSTANTIN, *Rhizomucor parasiticus*, espèce pathogène de l'Homme. *Revue générale de Botanique*, XII, p. 81, 1900.

* F. SAXER, *Pneumonomykosis aspergillina*. Iéna, 1900.

* LUCET et COSTANTIN, Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, IV, p. 362, 1901.

* L. GEDOELST, *Les Champignons parasites de l'Homme et des animaux domestiques*. Bruxelles, 1902.

TABLE DES MATIÈRES

SUL GENERE ANCYROCOTYLE (N. G.)

NOTA DEI

Professori C. PARONA e FR. SAV. MONTICELLI

(TAVOLA III)

Nel 1895 Parona e Perugia hanno descritto, col nome di *Placunella Vallei*, un piccolo Tristomide — trovato a Genova sulle branchie di *Naucrates ductor* — del quale hanno data anche una figura della ventosa posteriore, nonchè degli uncini di questa (1). Esaminando gli esemplari conservati nella collezione Parona abbiamo potuto convincerci che questa specie non solo non rientra nel genere *Placunella*, come l'intendono il Van Beneden ed Hesse, ma rappresenta una forma genericamente nuova fra i Tristomidi; che, dalla presenza dei due grossi ed appariscenti uncini della ventosa posteriore, i quali subito colpiscono l'osservatore, noi proponiamo di distinguere col nome di *Ancyrocotyle* (ἄγχυρος = gancio, uncino) : quindi d'ora innanzi la specie si chiamerà *Ancyrocotyle Vallei* Parona e Perugia [1895] (= *Placunella Vallei* Par. e Perug.).

Gli esemplari posseduti dal Parona non erano in condizioni di conservazione da permettere uno studio molto particolareggiato della specie, ma da essi, con opportuni artifizii di preparazione, abbiamo potuto ricavar tanto, quanto occorre per mettere in rilievo le caratteristiche del n. genere e distinguerlo dagli altri del gruppo al quale esso appartiene. L'aspetto generale dell'*Ancyrocotyle* può ricavarsi dalla figura 1, che rappresenta uno dei più grandi esemplari come si mostra a mediocre ingrandimento : esso porta, attaccate al pedicello della ventosa posteriore, un gruppo di uova, che per i loro lunghi filamenti, aggrovigliati fra loro ed intrecciantisi intorno ad un fuscellino ed al pedicello della ventosa, si fissano a questa (fig. 1 e 6).

Dall' esame della detta figura subito emergono le caratteristiche principali del nuovo genere : due rigonfiamenti anteriori, come

(1) C. PARONA e A. PERUGIA, Sopra due nuove specie di Trematodi ectoparassiti dei Pesci marini. *Boll. Mus. Genova*, 1895, n° 31, con figure.

due pagnotte, in mezzo alle quali sono scavate le ventose anteriori; corpo rettangolare ; una grande ventosa posteriore, circondata da un merletto, senza raggi, ma con due grossi uncini che occupano la metà posteriore della ventosa: i raggi poco distinti descritti e disegnati in questa dal Parona e Perugia, come ha dimostrato lo studio di esemplari diversamente preparati, erano dovuti ad effetto ottico di alcune preparazioni in glicerina. Lunghezza del corpo 1-3^{mm}. Queste caratteristiche sono messe meglio in luce dalla figura 2, ritratta con più forte ingrandimento e completata da varie preparazioni in toto.

Da essa si rileva bene la forma rettangolare allungata del corpo ed il suo terminare a punta rotondata e riquadrata anteriormente; e come le due pagnotte carnose innanzi descritte, allogate all' estremo anteriore del corpo, sono due lembi di pelle, sovrapposti e mobili, così che possono accartocciarsi su se stessi (v. f. 2, 4), di forma subtrapezoidale e dispoti alquanto obbliquamente da avanti in dietro, uno contro l'altro, in modo che si guardano per il lato maggiore del trapezio. In questi lembi carnosi, ed alquanto rigonfi, nella loro metà posteriore, sono allogate le due ventose anteriori, mediocri, poco profonde, scodelliformi. Dietro e sotto le ventose e che sporgono posteriormente oltre il margine posteriore dei due rigonfiamenti suddeti, mostrandosi, per trasparenza, come due masse più scure e più colorate (nei preparati colorati), si osservano due gruppi di glandole anteriori molto fitte tra loro e che vanno a sboccare nelle ventose anteriori (v. fig. 2, 4) : questi ammassi glandolari si scorgono anche a piccolo ingrandimento, come è messo in mostra dalla fig. 1. Provvedono ai movimenti delle ventose, e dei rigonfiamenti che le sopportano, due forti fasci muscolari derivanti dalla muscolatura longitudinale e che sono rappresentati nelle fig. 2 e 4 (*mrv*).

La ventosa posteriore, grande, a coppa molto aperta, ha aspetto delicato ed elegante : un fine merletto pieghettato fittamente ne orla i margini : il suo fondo è semplice ed integro senza raggi, nè solchi. Per trasparenza, possono studiarsi in essa tutti i sistemi delle fibre muscolari di che è composta; e si scorgono, in certi preparati, ben distinti i varii campi dei muscoli dorso-ventrali radiali; i quali per essere disposti in modo molto regolare, fanno apparire i loro interstizi, per effetto ottico, come dei tramezzi a

raggi complicati, e per tali interpetrati da Parona e Perugia, come innanzi abbiamo detto.

Nella ventosa posteriore, oltre i grandi uncini disposti come si è già descritto, vi è un secondo paio di uncini assai più piccoli, piccolissimi rispetto ai primi, ed allogati esternamente a questi. Gli uncini del primo paio, i grandi uncini (1), sono molto forti e robusti a punta molto acuta e ricurva, della forma generale ritratta nelle fig. 1, 2 (in sito) e 3*a* (isolati) : da queste figure può anche ricavarsi il modo come i detti uncini sono inseriti reciprocamente nella ventosa posteriore guardandosi per il lato convesso e convergendo ad incontrarsi al centro per pigliare, nel loro insieme, la figura di una V capovolta ed a braccia assai allargate. Gli uncini del secondo paio, della forma caratteristica disegnata nella figura 3 *b* (2), si trovano inseriti più verso il margine della ventosa e vengono accolti nella curva dei grossi uncini, che hanno le punte rivolte in sopra ed in fuori. Non ci è riuscito di scorgere il terzo paio di uncini veduto dal Parona e Perugia e disegnato, nella loro figura, in *c*. Queste le caratteristiche esterne, che vengono così completate da quelle della interna organizzazione.

La bocca si apre nella parte anteriore del corpo all' altezza del margine posteriore dei due rigonfiamenti anteriori : essa mette capo in un faringe globoso molto evidente che si continua con l'intestino.. Le due braccia intestinali semplici, sacciformi, come due budellini, a decorso un poco ondulato e che tendono a ravvicinarsi tra loro a misura che si spingono verso l'estremo posteriore del corpo, si terminano alquanto ristrette, nel punto dove il corpo comincia gradatamente a restingersi per andare a formare il pedicello della ventosa posteriore (v. fig. 2). Molto evidente si mostra, nei preparati colorati, il sistema nervoso centrale ed il paio dei grossi nervi posteriori e degli anteriori che da esso si originano : il cervello trovasi disposto, come dalla figura 2, sopra il livello del faringe e sotto quello dei ringonfiamenti anteriori. Sul dorso, alla altezza del cervello, si scorgono quattro piccolissuni occhi.

Gli organi genitali sono allogati nel terzo anteriore dell' ambito delle braccia intestinali, che sembrano disposte ad abbracciarli a ferro di cavallo; sboccano all' esterno sul lato sinistro della faccia

(1) Lunghi secondo gli esemplari, da 25 a 28 e 35 μ.
(2) Lunghi secondo gli esemplari, da 2 μ a 3 e 7 μ.

ventrale di sopra il livello dell' arco dell' intestino, accanto al faringe ed indipendentemente l'uno dall' altro, con due aperture distinte, ma fra loro ravvicinate [sbocco del pene e del metraterm] (fig. 2 e 5). L'unico testicolo, piccolo, rispetto al corpo, ma più grande dell' ovario, spostato alquanto verso sinistra della linea mediana, è collocato innanzi all' ovario e si continua in un deferente che va a terminare nel pene, slargandosi e descrivendo brevi e grosse anse prima di sboccare nella tasca peniea : questa ed il pene si presentano come è disegnato nelle figure 2 e 5. Subdorsalmente, dall' ovario, che occupa una posizione centrale nel corpo, parte l'ovidutto : questo, originandosi dal dorso dell' ovario, si ravvolge su sè stesso e poi si rivolge verso destra e risale, ripiegandosi ad ansa verso sinistra, per continuarsi nell' ootipo : nel tratto, dove l'ovidutto si ripiega per giungere all' ootipo, si scorge l'ammasso delle glandole del guscio che lo circonda (fig. 2, 5). L'ootipo fusiforme, allungato e ripiegato alquanto ad S, trovasi disposto disotto e parallelamente al pene e decorre obliquamente da destra a sinistra, passando di sopra il testicolo : mancando l'utero, esso si continua in un corto metraterm che si apre all' esterno di poco più in dietro del pene e sotto lo sbocco di questo (fig. 2 e 5). Dall' esame dei preparati in toto non è stato possibile mettere in luce l'esistenza di una vagina : ciò che, pertanto, non ci autorizza a negarne l'esistenza. I vitellogeni sono sparsi per tutto il corpo così fuori, che dentro le braccia intestinali : sono fatti d'acini relativamente piccoli che posteriormente si arrestano dove terminano le braccia intestinali, ed anteriormente non si spingono oltre l'arco dell' intestino (fig. 1 e 2). Le uova hanno aspetto piriforme con un lunghissimo pedicello dal polo ristretto : misurano μ. 14.

Le caratteristiche del n. g. *Ancyrocotyle* possono così riassumersi : « *Corpo* allungato, rettangolare. *Ventose anteriori* piccole, portate da due espansioni carnose anteriori. *Ventosa posteriore* grande, discoide, senza raggi muscolari, con un paio di grandi uncini chitinosi accompagnati da uncini minori. *Bocca* ventrale. *Orifizi* genitali situati a sinistra. *Testicolo* unico. *Uova* piriformi, allungate con un lungo pedicello filiforme-Parassita sulle branchie dei Pesci marini (Teleostei).

Unica specie : *A. Vallei* Parona e Perugia.

Il nuovo genere *Ancyrocotyle*, per tutte le sue caratteristiche, rientra nella famiglia dei Tristomidi e si può iscrivere, per la presenza delle due ventose anteriori nella sottofamiglia dei *Tristominae*. Esso si differenzia da tutti gli altri generi della sottofamiglia per le espansioni carnose anteriori e per avere un solo testicolo. Caratteristica comune coi generi *Nitzschia, Epibdella, Trochopus, Tristomum* è il modo di sbocco dei genitali sul lato sinistro, pel quale, invece, il n. g. si discosta da *Acanthocotyle*. Con *Nitzschia, Epibdella* ed *Acanthocotyle* il nuovo genere ha, per contro, la caratteristica comune della ventosa posteriore senza raggi e con uncini; ma per la forma, grandezza, numero e disposizione di questi, differisce così da *Epibdella*, come da *Acanthocotyle*.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA III

Lettere comuni a tutte le figure. — *apgf*, apertura genitale femminile; *apgm*, aperture genitale maschile; *b*, bocca; *bi*, braccia intestinali: *c*, cervello; *d*, deferente; *f*, faringe; *ga*, glandole anteriori; *gg*, glandole del guscio; *mrv*, muscoli retrattori delle ventose anteriori: *mt*, metraterm; *ov*, ovario; *ovd*, ovidutto; *p*, pene; *t*, testicolo.

Fig. 1. — Figura d'insieme di *Ancyrocotyle Vallei*: dall'esemplare tipico di Parona (rappresentato dal Parona et Perugia in *Boll. Musei di Genova*, n° 31, 1895) con le uova attaccate al pedicello della ventosa posteriore. × 23.

Fig. 2. — *Ancyrocotyle Vallei* molto più ingrandito per mostrare le caratteristiche esterne e l'insieme della interna organizzazione. × 44.

Fig. 3. — Un paio (sinistro) degli uncini della ventosa posteriore moltissimo ingranditi: *a* × 90, *b* × 220.

Fig. 4. — Glandole anteriori e muscoli retrattori delle eminenze portanti le ventose anteriori: da un preparato in toto. × 250.

Fig. 5. — Figura d'insieme degli organi genitali maschili e femminili nei loro rapporti reciproci (non sono rappresentati i vitellodutti): da un preparato in toto. × 110.

Fig. 6. — Un gruppetto di uova del fascio rappresentato nella fig. 1, come esse sono attaccate al fuscello per mezzo dei loro filamenti, con i quali, insieme al fuscello stanno ravvolte intorno al pedicello della ventosa posteriore. × 92.

NOTICES BIOGRAPHIQUES

XIV. — CASIMIR-JOSEPH DAVAINE

(19 Mars 1812 - 14 Octobre 1882)

Parmi les parasitologues qui se sont illustrés au cours du XIXe siècle, bien peu ont été aussi grands que Davaine; nul ne mérite plus que lui l'une de ces *Notices biographiques* que nous consacrons aux savants qui ont jeté le plus d'éclat sur la science qui nous est chère. Pourtant, nous nous bornerons à publier son portrait, car nous n'aurions pas grand'chose à ajouter à la notice très documentée qui lui a été consacrée par le Prof. Al. Laboulbène, qui fut son collaborateur et son ami (1).

Bornons-nous à ajouter que la famille de Davaine a eu la pieuse pensée de réunir ses principaux mémoires en un volume dans lequel se trouve reproduite la notice de Laboulbène (2).

(1) A. Laboulbène, Notice sur C.-J. Davaine, lue à la séance de la Société de biologie du 2 février 1884. *Mémoires de la Soc. de biol.*, (8), I, p. 1-20, 1884. Paris, Masson, in-8° de 29 p. avec portrait, 1884.

(2) *L'œuvre de C.-J. Davaine*. Paris, J.-B. Baillière et fils, in-8° de 861 p. avec 7 pl. et un portrait, 1889. — La notice de Laboulbène se trouve en tête du volume, p. 1-29.



LA CHIQUE DES OISEAUX

(*SARCOPSYLLA GALLINACEA* Westw.)

OBSERVÉE EN EUROPE

PAR

le Dr C. TIRABOSCHI,

Assistente nei Laboratori della Sanità Pubblica, Roma.

La Chique des Oiseaux a été découverte en 1875 par les zoologistes Moseley et Green, dans l'île de Ceylan, sur des Poulets, autour des yeux et sur la nuque ; de nombreux exemplaires furent envoyés à Westwood, qui désigna (1) cette nouvelle espèce sous le nom de *Sarcopsyllus gallinaceus*, nom qui lui a été conservé jusqu'à présent.

Cinq années plus tard, le Professeur Taschenberg (2) donna une description un peu sommaire de cette espèce, en se servant de quelques exemplaires de Westwood, faisant partie de la collection de Ritsema.

En 1886 la même espèce était trouvée par Johnson (3) dans la Floride sur des Poulets très jeunes, autour de la tête; plus tard, le même observateur, ne connaissant peut-être pas le mémoire de Westwood, proposa (4) le nom de *Pulex pullulorum* ; il envoya des exemplaires à la Société entomologique de Washington, et Riley en donna quelques-uns au Prof. Packard, qui reconnut (5) leur identité avec la *Sarcopsylla gallinacea* de Westwood.

(1) J.-O. Westwood. Description of a new Pulicidous Insect from Ceylon. *Entom. Monthly Magazine*, XI, 1875.

(2) O. Taschenberg, *Die Flöhe*. Halle, 1880.

(3) *Proceed. of the entom. Soc. of Washington*, (1886) 1888.

(4) L.-C. Johnson. The Jigger Flea of Florida. *Ibidem*, (1889) 1890. — Johnson dit que la Jigger Flea attaque non seulement les Poulets et les Canards, mais aussi les Chats, les Chiens, les Veaux, les Poulains et même les enfants ; on a confondu, peut-être, la Chique des Oiseaux avec celle de l'Homme, *Sarcopsylla penetrans* (L.), qui existe aussi en Floride, d'autant plus qu'on dit que la ♀ fécondée s'enfonce dans la peau, ce qui dans le fait n'aurait lieu que pour la *Sarcopsylla penetrans*.

(5) A.-S. Packard, Occurrence of the Hen Flea in Florida. *Insect Life*, VII, 1894.

La même année 1894 parurent un mémoire du Prof. Hartzell (1) qui, dans la Caroline du Sud, avait trouvé la *Sarcopsylla gallinacea* Westw. sur plusieurs Chevaux d'origine diverse (2), et un autre mémoire du Dr Wagner (3), le savant aphaniptérologiste russe, qui, ayant reçu quatre spécimens ♂ et quatre ♀ capturés dans le Turkestan sur un Hibou, et puis un autre spécimen ♂ de ceux que Johnson avait pris en Floride, reconnut l'identité du parasite asiatique avec le parasite américain et en donna une bonne description.

En 1897, le Prof. R. Blanchard, grâce à quatre spécimens provenant de Ceylan et des Indes (4), compléta et corrigea (5) la description donnée par Wagner et y ajouta de précieuses notices historiques (6) et des observations très intéressantes sur la distribution géographique de la *Sarcopsylla gallinacea*, sur lesquelles je reviendrai.

Récemment le parasite a été observé dans l'Afrique orientale allemande (où il attaque surtout les Poulets, mais aussi les Canards) par le Dr Fülleborn, qui en a envoyé des exemplaires au Muséum zoologique impérial de Berlin; les notices qui s'y réfèrent ont été publiées par le Dr Enderlein (7).

La *Sarcopsylla gallinacea* Westwood a donc été signalée jusqu'à présent en Asie (à Ceylan et au Turkestan), en Amérique (Floride, Caroline du Sud et Texas, c'est-à-dire dans le sud des Etats-Unis) et en Afrique (dans les possessions orientales allemandes), c'est-à-dire entre le 36° de lat. Nord et le 10° de lat. Sud. Les animaux sur lesquels elle a été capturée sont surtout les Oiseaux et plus partilièrement les Poulets et les jeunes Canards domestiques; dans la Caroline du Sud seulement, on l'a certainement trouvée sur le Cheval.

(1) J.-C. Hartzell, The Hen Flea on Horses. *Insect Life*, VII, 1894.

(2) J'ai reçu du Dr Baker deux ♀ prises par Hartzell à Orangeburg sur un Cheval, puis deux ♀ prises par Toumey sur des Poulets dans le Texas.

(3) J. Wagner, Notiz über *Pullex pallidus* und *Sarcopsylla gallinacea*. *Horae Soc. entom. rossicae*, XXVIII, 1894.

(4) Deux exemplaires, 1 ♂ et 1 ♀, pris « from eyelid of Ceylan Fowl », provenaient peut-être de la collection de Moseley; les deux autres, 1 ♂ et 1 ♀ pris « of Indian Duck and Fowl » provenaient peut-être des Indes.

(5) R. Blanchard, La Chique des Oiseaux. *Bull. de la Soc. nation. d'acclim. de France*, 1897.

(6) C'est de ces notices que j'ai pris une partie de mon aperçu historique.

(7) G. Enderlein, Zur Kenntniss der Flöhe und Sandflöhe. *Zoologische Jahrbücher, Abth. für Systematik*, XIV, 1901.

Ce résumé historique montre l'importance de la découverte de la *Sarcopsylla gallinacea* Westw. sur des Rats et en Italie.

Comme je l'ai fait remarquer plus haut, le seul Mammifère sur lequel on a capturé jusqu'à présent la Chique des Oiseaux est le Cheval ; j'ai dit aussi pourquoi les données de Johnson, suivant lesquelles le parasite infesterait aussi le Chien, le Chat, le Veau et l'Homme lui-même, ne sont pas à prendre en considération. Mais, même malgré cela, on n'a jamais observé ce parasite sur les Rats (1). Or, j'ai capturé un grand nombre d'exemplaires sur plusieurs individus de *Mus alexandrinus* Geoffroy, le Rat à ventre blanc, qui depuis longtemps est considéré comme une variété du *Mus rattus* L., le Rat noir, et qui est encore assez répandu en Italie (2). Ces Rats ont été capturés dans des localités différentes d'Italie, c'est-à-dire dans les provinces de Teramo, de Pesaro et de Caserta, ce qui suffit, il me semble, pour dire qu'il ne s'agit point d'un parasitisme accidentel.

Dans tous les Rats infestés, la seule partie du corps envahie était la tête et plus particulièrement le museau ; les parasites y étaient en grand nombre, si solidement fixés dans la peau par leur appareil perforateur que, pour les extraire, on devait les tirer avec beaucoup de force, et maintes fois on déchirait assez profondément la peau de l'hôte ; toutefois je n'ai jamais observé aucun trouble pathologique.

Tous les exemplaires que j'ai pris sont des ♀, ce qui ne semble pas confirmer l'assertion du prof. R. Blanchard : « Les deux sexes sont également parasites, contrairement à ce qui a lieu pour la Chique de l'Homme. » Les caractères sont à peu près les mêmes que ceux qui ont été donnés par les auteurs susdits, comme je dirai plus loin.

Quant aux régions où se trouvaient les parasites que j'ai capturés,

(1) Enderlein (*l. c.*) a décrit l'année passée une nouvelle espèce de *Sarcopsylla*, à laquelle il a donné le nom de *S. cæcata* ; il en a trouvé 17 exemplaires ♀ sur un spécimen ♀ de *Mus rattus* L., que le prof. Nehring avait capturé à São Paulo (Brésil) et envoyé au Muséum zoologique impérial de Berlin ; tous les 17 exemplaires étaient fixés derrière les oreilles, sur la peau, « diese beulenformig auftreibend ». La *Sarcopsylla penetrans* L. a été trouvée sur l'*Arvicola arvalis* Pall., collection de Schmarda.

(2) C. Tiraboschi, Gli animali propagatori della peste. Nota 3ª. *Boll. della Soc. zool. ital.*, 1902.

je fais remarquer qu'elles sont comprises entre le 41° et le 44° de lat. nord, c'est-à-dire beaucoup plus vers le nord que les régions d'Asie et d'Amérique où l'on avait trouvé auparavant la Chique des Oiseaux. La découverte de cette Chique en Europe et jusqu'au 44° de lat. nord est très remarquable, car aucune Chique, ni celle des Oiseaux, ni celle de l'Homme, ni celle qu'Enderlein a signalée chez les Rats de São Paulo (20° lat. sud), n'y a encore été observée. Le prof. R. Blanchard, envisageant la répartition des lignes isothermes passant par la Caroline du sud et la Floride, et par le Turkestan, écrivait en 1897 : « On doit s'attendre à ce que les régions du nord de l'Afrique ou du sud de l'Europe soient envahies à leur tour », ce qui s'est en partie vérifié. En 1898, le Dr Fülleborn découvrait le parasite en Afrique, non dans le nord, il est vrai, mais vers le même degré de latitude (au nord) où se trouve (au sud) l'île de Ceylan ; a mon tour je viens de le trouver dans le sud de l'Europe.

Le Prof. R. Blanchard, dans la crainte que la *Sarcopsylla gallinacea* « ne pénètre et ne s'acclimate aussi chez nous, écrivait qu'elle méritait d'être signalée à l'attention des éleveurs et des acclimateurs, dans les basses-cours et les volières desquels elle peut causer de grands ravages ». Ces grands ravages ont été observés surtout par Johnson en Floride, où les très jeunes Poulets envahis par des Chiques perdaient la voix et puis leur duvet et périssaient rapidement et en grand nombre. Dans l'Afrique orientale allemande, selon Fülleborn, « tritt dieser Sandfloh besonders an Hühnern, aber auch an Enten schädlich auf und besonders junge Individuen fallen ihm bei starker Infection häufig zum Opfer ».

Quant aux moyens de combattre ce dangereux parasite, tandis que Johnson n'en connaît aucun de sûr et pratique, selon Fülleborn « soll ein Bestreichen der inficirten Stellen mit Butter die Thiere abtödten, doch dürfte eine mehrmalige Anwendung von einem Mineralöl, wie z. B. Petroleum, oder auch von Vaselinöl, eine gründlichere Reinigung bewirken. »

Je suivrai les descriptions de Taschenberg, Wagner et R. Blanchard en y ajoutant çà et là les variations que j'ai remarquées dans mes exemplaires, comparés avec ceux que j'ai reçus de Baker ; je tâcherai ainsi de donner une description complète et exacte du parasite.

Le rapport de la longueur et la largeur du corps, chez le ♂, serait 1 (Taschenberg), 2 et même plus (Wagner), 1 2/3 (R. Blanchard); chez la ♀, 1 1/2 (Wagner et R. Blanchard); dans mes exemplaires ♀, et même dans ceux de Baker, ce rapport est 2 (quelquefois même un peu plus, surtout dans les spécimens de Baker, quelquefois aussi un peu moins), c'est-à-dire que la longueur est le double de la largeur (1).

Le contour de la *tête*, vue de profil, est à peu près celui d'un trapèze irrégulier : la grande base est un peu courbée et appuyée sur le prothorax; et la petite, rectiligne et verticale, est en avant; le côté supérieur est très légèrement bombé, presque rectiligne, et un peu infléchi en avant; l'inférieur est oblique en bas et en arrière. Chez le ♂, la tête serait relativement un peu plus longue (Wagner) et dans sa partie supérieure, à la hauteur des fossettes antennales, elle serait fortement infléchie en bas (Taschenberg et Wagner).

L'*œil*, situé dans la moitié postérieure de la tête et tout près du bord antérieur des fossettes antennales, est grand et irrégulier; Wagner dit qu'il est presque réniforme; dans mes exemplaires, il est allongé, un peu rétréci en haut, et fortement pigmenté en noir, exception faite d'une partie centrale presque circulaire, qui est moins pigmentée et pour cela se montre plus claire, à peu près comme dans la Chique de l'Homme. Le bord antérieur des *fossettes antennales* se prolonge (Wagner) en une lamelle triangulaire dont le sommet est tourné en arrière et qui recouvre la moitié antéro-inférieure de la fossette; aucun de mes exemplaires ne présente cette lamelle, dont j'ai constaté la présence sur les spécimens de Baker, dans lesquels on la voit très mince et transparente. Le 2me article des *antennes* est nettement séparé du premier, il a la forme d'une tasse et présente une série de soies le long du bord supérieur; le 3me est court et gros, avec l'appareil sensoriel commun aux autres chiques.

L'*appareil perforateur* (rostre, trompe) est un tiers plus long que la tête (Taschenberg); R. Blanchard dit qu'il est long de 0^{mm}40; moi aussi, je l'ai trouvé long de 0^{mm}40, c'est-à-dire environ une fois et

(1) Cette différence tient peut-être à ce que les autres préparateurs ont trop comprimé leurs exemplaires entre le porte-objet et le couvre-objet; quant à moi j'ai placé mes spécimens sur des lames creuses (celles qui servent à l'examen des gouttes pendantes).

demie aussi long que la tête. Les palpes labiaux sont larges, mais délicats et transparents; d'après Enderlein, « eigenthümlich ist die bisher noch nicht beobachtete Haltung derselben bei dem festgesaugten Thier. Dei beiden Lappen werden über den Kopf nach oben zurückgeschlagen, so dass die übrigen den Russel bildende Mundtheile zwischen den beiden Lappen der Unterlippe hindurchtreten. » Chaque mandibule présente quatre séries longitudinales de petites dents; dans chacune de ces séries Taschenberg a compté 54 dents; sur le piquant impair (« unpaariger Stechorgan » de Landois), il y a 6 à 8 petites dents (Westwood). Sur la tête on voit, de chaque côté, 2 longues soies en avant des fossettes antennales et 2 à 3 soies en arrière d'elles; des deux premières soies, l'une est placée en avant de l'œil, un peu au-dessous, l'autre au-dessus du bord inférieur de la tête (Wagner).

Les *écailles aliformes* du métathorax sont très développées ; elles ont toujours une série de cinq soies longues et fortes, dont la plus haute est placée immédiatement au-dessous du stigmate, qui est à l'angle antéro-supérieur. Exceptionnellement, dans un de mes exemplaires, j'ai compté 4 soies sur un côté et dans un spécimen, pris par Hertzell sur un Cheval, 6 soies. Le développement relatif de ces soies varie beaucoup. Suivant Wagner, les écailles couvriraient, chez la ♀, les stigmates au moins des trois premiers segments de l'abdomen ; de plus, elles se termineraient en arrière par un angle un peu obtus ; leur bord supérieur serait convexe, l'inférieur concave. En étudiant mes exemplaires et en les comparant avec ceux de Baker, j'ai constaté que la forme et même la grandeur de ces écailles n'est pas constante; quelquefois elles s'en écartent, soit que, leur bord supérieur étant plus court, elles soient moins développées et se terminent inférieurement par un angle aigu, soit que leur bord inférieur ne soit pas concave, etc. — De plus, aucun de mes nombreux exemplaires n'a les stigmates des trois premiers segments abdominaux couverts par les écailles ; dans ceux de Baker, le premier stigmate est seul couvert en partie (1).

Les *segments abdominaux* sont nettement séparés les uns des autres, surtout dans leur partie supérieure (*notum*) ; le notum des zonites 2 à 7 présente de chaque côté, en haut et tout près de son

(1) Voir la note précédente.

bord antérieur, un large stigmate circulaire, très visible, et au-dessus, presque sur la ligne médiane dorsale, une forte soie ; le huitième segment présente les deux stigmates cloacaux (1), qui sont bien développés, comme dans les autres espèces du genre *Sarcopsylla*, et placés tout près l'un de l'autre ; dans toutes les figures que j'ai vues, ces stigmates et parfois mêmes les autres, ne sont pas dessinés, et ni Taschenberg, ni Wagner, ni R. Blanchard ne les mentionnent dans leurs descriptions. Les segments 8 et 9 se distinguent aussi par leurs nombreuses soies. Contrairemeut à ce qui a lieu pour la *Sarcopsylla penetrans* et pour la *Sarcopsylla cæcata*, l'abdomen de la ♀ ne grossit pas extraordinairement, car les œufs, au fur et à mesure qu'ils arrivent à maturité, sont expulsés au dehors (R. Blanchard).

Les *pattes* et surtout les jambes (*tibiae*) sont beaucoup plus velues que celles de la *Sarcopsylla penetrans* ; les soies sont plus longues et plus fortes. Les pattes sont aussi moins grêles, surtout dans les articles du tarse (Taschenberg, R. Blanchard) ; les ongles n'ont pas l'aspect de griffes ou de crochets, mais plutôt de soies, car ils sont grêles, peu courbés et relativement très longs, à peu près comme le dernier article du tarse (Wagner). L'aspect des hanches (*coxae*) des pattes postérieures est caractéristique ; l'angle antéro-inférieur présente un prolongement bien marqué, en forme de dent un peu recourbée et dirigée en bas ; un prolongement moins développé se voit au bord postérieur, au-dessous du sommet, et l'angle inféro-postérieur est presque droit (Wagner) ; le bord antérieur est légèrement (très légèrement dans mes exemplaires) et régulièrement convexe, et la moitié antéro-inférieure de la face externe est couverte d'épines, larges à leur base et très serrées les unes contre les autres (R. Blanchard) ; dans mes exemplaires, ces épines ont plutôt l'aspect des papilles. Les hanches des pattes antérieures sont relativement grêles (Wagner).

Caractéristique est aussi la longueur très remarquable d'une des grandes soies, qui se détachent de l'extrémité inférieure du 2e article du tarse des pattes postérieures et qui, suivant Wagner, seraient au nombre de 4 ; dans mes exemplaires et dans ceux de Baker,

(1) « Die Kloakenstigmen » de Karsten (*Beitrag zur Kenntniss des Rhynchoprion*. Moskau, 1864).

elles sont au moins au nombre de 6, sans compter quelques autres soies très petites ; la longueur de la plus grande surpasse celle des 3me, 4me et 5me articles pris ensemble, ce qu'on ne voit pas dans les figures des autres observateurs.

Voici un autre caractère que ceux-ci n'ont pas fait remarquer, et dont je ne sais s'il est commun à la *Sarcopsylla penetrans* et à la *Sarcopsylla cæcata* ; les soies des deux séries longitudinales du dernier article des tarses (*metatarsus* de Wagner) sont au nombre de 4 par côté, et placées à distance égale ou presque égale l'une de l'autre ; les trois supérieures sont à peu près de la même grandeur ; l'inférieure est plus petite, plus grêle et plus transparente.

Les proportions de longueur des articles du tarse sont les suivantes, d'après Taschenberg : dans les pattes antérieures, les 4 premiers articles sont de la même longueur et chacun un peu plus large que long ; le 5me est trois fois plus long ; dans les pattes moyennes, le 2me est un peu plus long que le premier, le 3e et le 4e ; dans les pattes postérieures, le premier est presque égal au dernier et plus long que chacun des trois autres, qui se succèdent dans cet ordre de longueur décroissante : 2me, 3me, 4me. Dans mes exemplaires, la longueur des 4 premiers articles des tarses antérieurs décroît un peu du premier au 4e, et ils sont plus longs que larges (1) ; dans les pattes moyennes, comme dans les pattes antérieures, le dernier article est trois fois plus long que le 4me ; dans les pattes postérieures, le premier article est presque aussi long que le 5me et le 3me pris ensemble ; le 5me est long comme le 2me et comme le 4me et le 3me pris ensemble. Dans un spécimen de 1mm4 de longueur totale, les longueurs des articles des tarses, à partir du premier, sont les suivantes :

pattes antérieures : 90, 90, 85, 80 et 230 μ
» moyennes : 150, 160, 140, 90 et 230 μ
» postérieures : 320, 230, 130, 100 et 230 μ

La longueur totale du corps, abstraction faite de l'appareil perforateur, serait chez le ♂ de 1mm5 (Taschenberg), 0mm75 à 1mm (Wagner), 1mm125 (R. Blanchard) ; chez la ♀, 1mm5 (Taschenberg), 1mm. (Wagner), 1mm2 (R. Blanchard, 1mm225 à 1mm6 (exemplaires Hartzell et Toumey), 1mm4 à 1mm750 (mes exemplaires).

(1) Dans les spécimens de Baker, ces articles sont plus larges que longs.

Toutes les différences que je viens de signaler ne sont pas assez grandes ni assez nombreuses pour justifier la création d'une nouvelle espèce, mais tout au plus celle d'une variété de la *Sarcopsylla gallinacea* Westwood (on pourrait la nommer *Sarcopsylla gallinacea* var. *murina* ou même *Sarcopsylla gallinacea* var. *italica*), d'autant plus que quelques-unes de ces différences peuvent être attribuées à un défaut d'observation chez quelqu'un des auteurs qui m'ont précédé.

UNE FORME LARVAIRE

DE L'OXYURE DU CHEVAL

PAR

A. RAILLIET et A. HENRY

Le 20 novembre 1889, nous trouvions à Alfort, dans le cæcum d'un Cheval de dissection, parmi des Cylicostomes et des Oxyures à courte queue adultes, une quarantaine de Nématodes agames qu'après un examen sommaire nous étiquetions provisoirement : « *Oxyuris equi* (Schrank), femelles jeunes ».

Le 21 mars 1902, nous rencontrions, chez un Cheval de dissection encore, mais cette fois dans le gros côlon, une vingtaine de parasites analogues, mélangés à de nombreux Oxyures adultes.

Il nous paraît intéressant de faire connaître l'organisation de ces jeunes Nématodes, car nous n'avons trouvé, même dans les publications récentes, aucune description paraissant s'y rattacher.

La plupart des individus offrent nettement un habitus de femelles. Le corps est cylindroïde, légèrement atténué en avant et beaucoup plus en arrière ; il atteint son maximum d'épaisseur vers le tiers antérieur. L'extrémité céphalique est un peu renflée et tronquée ; l'extrémité caudale, déjà fort amincie, se rétrécit brusquement pour se terminer par une pointe grêle longue de 110 à 210 µ. La longueur totale est de 5^{mm} à $10^{mm}5$; la largeur maxima varie entre 330 µ et 750 µ. Le tégument est marqué de stries transversales très espacées, l'écartement moyen étant d'environ 60 µ.

La bouche, terminale et arrondie, semble avoir pour base deux cercles concentriques, l'un assez réfringent, l'autre grenu, en dedans desquels se projette un limbe buccal membraneux et transparent, découpé régulièrement en douze lobes ou crénelures.

Cette bouche donne entrée directement dans un œsophage très court et très musculeux, en forme de coupe hémisphérique largement ouverte en avant, de telle sorte qu'au premier abord on croirait avoir affaire à une capsule buccale. Selon la règle, il est nettement triquètre ; mais deux de ses trois faces portent, vers le

milieu de la cavité, deux saillies chitineuses coniques assez distantes, rappelant un peu les lancettes si fréquentes dans la capsule buccale des Sclérostomiens ; sur la troisième face, nous avons cru voir parfois une saillie médiane légère, simple ou double, mais nous ne pouvons rien préciser à cet égard. Vu de front, c'est-à-dire par la face antérieure ou buccale, l'œsophage montre, par compression de la préparation, ses trois faces en forte saillie, simulant trois lèvres dont la convexité tend à se rapprocher du centre.

Immédiatement en arrière de cet œsophage, dont il est séparé par un simple étranglement, naît une sorte de bulbe ellipsoïde beaucoup plus étroit, moins musculeux cependant, qui débouche dans l'intestin par son orifice postérieur, protégé par trois appendices ou valvules.

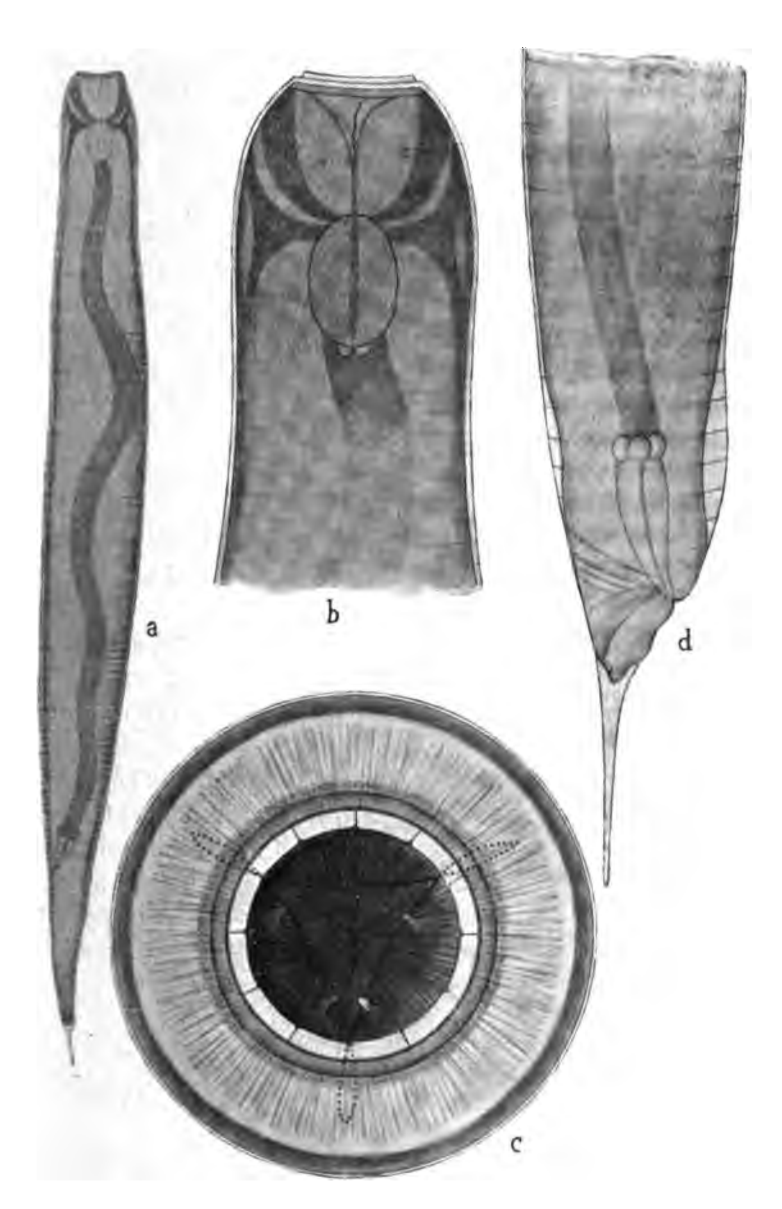
L'intestin décrit à peine quelques sinuosités ; il conserve à peu près le même diamètre dans toute sa longueur ; à une faible distance de sa terminaison, il montre quelques glandes annexes, et se rétrécit ensuite en un court rectum, aboutissant à un anus en forme de fente transversale situé sur la face ventrale, au sixième postérieur du corps. Il existe à ce niveau quelques faisceaux musculaires radiés.

Nous pouvons ajouter que le collier nerveux est situé au niveau de la séparation de l'œsophage et du bulbe.

Ce sont là les seuls organes que nous aient présentés ces parasites. Dans l'état de conservation où ils se trouvent, nous n'avons pu y déceler même de rudiments d'organes genitaux.

Cependant, un certain nombre d'individus diffèrent quelque peu du type que nous venons de décrire. Ils ont l'extrémité postérieure plus épaisse, la pointe de la queue plus longue (200 à 300 μ), et l'anus situé presque à la base de cette queue. Il nous a paru que cette modification de l'extrémité postérieure correspondait à la première indication d'un caractère sexuel secondaire, et que la forme en question devait représenter une larve de mâle. Des faits de même ordre, mais d'un caractère beaucoup plus net, nous ont d'ailleurs été offerts par des Strongylidés. La longueur de ces larves est de 5 à 6 millimètres, leur largeur de 450 à 500 μ.

Leur nombre est notablement moins élevé que celui des larves précédentes, que nous considérons par suite comme larves de



a, larve de femelle, × 15; *b*, extrémité antérieure d'une larve de femelle, vue de côté, × 50; *c*, extrémité antérieure d'une larve de femelle, vue de front, × 100 (préparation comprimée, montrant trois plans successifs); *d*, extrémité postérieure d'une larve de mâle, × 100.

femelles. La proportion est de 1 larve de mâle pour 3 larves de femelles.

A quelle espèce de Nématode doit-on rattacher ces formes larvaires ?

Leur séjour dans le cœcum et le gros côlon permet de songer à un Sclérostomien, à l'*Anguillula vivipara* Probstmayr et à l'*Oxyuris equi* (Schrank). Mais la forme générale, la constitution de l'œsophage ou la taille font écarter rapidement les deux premiers types, tandis qu'on peut reconnaître certains rapports entre notre larve et le vulgaire Oxyure. On peut noter, par exemple, l'écartement considérable des stries cuticulaires (30 à 40 μ chez l'Oxyure, 60 μ chez la larve), la présence de glandes rectales et la netteté avec laquelle se détachent les muscles rectaux.

Par contre, on peut relever des différences d'organisation assez marquées, entre autres les suivantes :

L'Oxyure adulte a un rebord buccal hexagonal, en dedans duquel se trouvent six lèvres. — La larve possède un rebord buccal circulaire, en dedans duquel existent douze lèvres.

L'extrémité céphalique porte, chez l'Oxyure adulte, six papilles péribuccales, deux latérales et quatre submédianes, ces dernières entourées de stries radiées. — On ne distingue chez la larve aucune papille péribuccale.

La bouche de l'Oxyure adulte donne entrée dans un court vestibule suivi d'un œsophage offrant, en avant, un renflement allongé, de forme et d'organisation complexes, et en arrière un renflement arrondi, garni sur ses trois faces de saillies cuticulaires (appareil dentaire). — Chez la larve, la bouche donne entrée directement dans un œsophage cupuliforme, pourvu de plusieurs dents ou lancettes, et suivi d'un renflement inerme, dont il est séparé par un étranglement.

Le collier nerveux est situé, chez l'Oxyure adulte, vers le milieu de la longueur du premier renflement œsophagien. — Il se trouve, chez la larve, au niveau de l'étranglement.

Enfin, l'extrémité postérieure de la femelle est terminée graduellement en une longue pointe à extrémité mousse. — Celle de la larve offre une sorte de prolongement appendiculaire grêle.

Mais, si nombreuses et variées que soient ces différences, il est aisé de se convaincre qu'elles sont loin d'être irréductibles, et

qu'une simple mue subie par notre larve pourrait mettre l'observateur en présence d'une forme revêtant les caractères essentiels de l'*Oxyuris equi*.

Nous croyons devoir rappeler, en terminant, que Schlotthauber (1) a signalé en 1860, sous le nom de *Piguris reticulata*, un Ver trouvé dans le gros côlon d'un Cheval, et au sujet duquel il a donné seulement les renseignements très incomplets que voici :

« 1. *Piguris reticulata* mihi, genere specieque nova specimen 1 fem. ex int. cr. colo *Equi caballi* masc. L. Gött. Jan. 6. 1845. — Ist zunächst mit *Lepturis curvula* mihi (*Oxyuris curvula* Rud.) durch Hauttextur und Wohnort im Colon des Pferdes verwandt, aber durch Habitus, Mundbildung und Afterlage in der Schwanzspitze gänzlich verschieden. »

En dépit de l'insuffisance de cette description, il est possible de découvrir de sérieux points de contact entre ce Ver et celui que nous avons observé. En effet, nous avons constaté aussi que l'aspect de la cuticule offre une grande ressemblance chez notre larve et chez l'Oxyure adulte ; de même il y a identité d'habitat. En continuant la comparaison, nous trouvons également des différences dans l'habitus et dans la constitution de la bouche. Mais, tandis que Schlotthauber dit avoir vu l'anus à la pointe de la queue, nous l'avons trouvé au contraire assez éloigné. Toutefois il est fort probable que l'auteur a fait erreur en attribuant à l'anus cette situation absolument exceptionnelle, que nous n'avons jamais constatée chez aucun des Nématodes dont la queue est terminée en pointe. Il est donc assez vraisemblable que le *Piguris reticulata* Schlotthauber correspond à la larve que nous venons de décrire.

En résumé, le Nématode agame que nous avons rencontré dans le cæcum et le côlon replié du Cheval nous paraît être simplement une forme larvaire de l'*Oxyuris equi* (Schrank), ou mieux une forme immature qu'une dernière mue doit amener à la forme adulte.

(1) Schlotthauber, Beiträge zur Helminthologie. *Amtlicher Bericht über die ein und dreissigste Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Göttingen im September 1854.* Göttingen, 1860, p. 121. — Cf. p. 126.

NOTICES BIOGRAPHIQUES

XV. — ANGELO DUBINI

PAR

le D[r] BRUNO GALLI-VALERIO

Professeur à la Faculté de médecine de Lausanne.

Lorsque, en 1880, Perroncito démontra que l'anémie, qui faisait des ravages effrayants parmi les ouvriers du Saint-Gothard, était sous la dépendance de l'*Anchylostoma duodenale*, le nom d'Angelo Dubini, qui avait découvert ce Nématode en 1843, figura dans tous les journaux politiques et scientifiques. Mais, une fois passée la vive émotion produite dans le public par cette grave épidémie, le savant médecin de Milan fut de nouveau oublié.

J'essayerai de résumer, dans ces notes biographiques, la vie et l'œuvre parasitologique de ce modeste savant, qui, tout en travaillant activement pour gagner sa vie, comme médecin praticien, a su arriver à occuper une place distinguée parmi les parasitologues (1).

Angelo Dubini est né à Milan le 8 décembre 1813, d'une famille peu fortunée. Ses goûts le portant vers la médecine, il se fit immatriculer à la Faculté de Pavie. Bientôt remarqué par ses professeurs à cause de son intelligence et de son activité, il fut, encore étudiant, nommé assistant à la chaire d'anatomie.

Diplômé en 1837, il entra comme médecin-assistant provisoire à l'Hôpital majeur de Milan, mais il n'y resta pas longtemps, car, en 1839, on l'appela de nouveau à Pavie, en qualité d'assistant à la chaire de thérapeutique spéciale et de clinique médicale. Il occupa cette place pendant deux années et se signala par son zèle et son esprit scientifique. Mais le grand désir de Dubini, était de voyager pour se rendre compte des progrès de la médecine à l'étranger. Connaissant bien le français, l'anglais et l'allemand, il quitta l'Italie

(1) Je remercie vivement M[me] Antongini Dubini et M. le D[r] Bertarelli, de de l'Hôpital majeur de Milan, qui ont bien voulu me procurer les documents utiles pour cette biographie.



ANGELO DUBINI

1813-1902

en 1841, pour visiter successivement la France, l'Angleterre et l'Allemagne. Il y fréquenta les cliniques, étudia soigneusement les pièces anatomo-pathologiques conservées dans les différents musées, s'occupa de microscopie, et c'est probablement ce voyage qui éveilla en lui le goût des études microscopiques et des recherches de parasitologie. Il n'est pas douteux que David Gruby joua un grand rôle dans son orientation vers ce domaine. C'est avec lui, en effet, qu'il travailla au microscope et il en garda toujours le meilleur souvenir. Cela résulte de ses travaux où il parle souvent du savant parasitologue, auquel il demanda plusieurs fois des conseils.

Au commencement d'octobre 1842, Dubini rentra en Italie pour occuper de nouveau la place de médecin-assistant provisoire à l'Hôpital majeur de Milan. Dès cette époque, jusqu'au moment où il demanda sa retraite, il ne quitta plus cet Hôpital. En 1847, il y fut nommé chef du service des autopsies ; en 1849, il fut élu membre de la commission pour l'étude de la rage, et, en 1865, nommé chef du service des maladies de la peau, maladies dont il s'était toujours occupé avec prédilection. C'est en 1878 que Dubini, après avoir consacré 40 années de sa vie à l'Hôpital majeur, demanda sa retraite. Elle lui fut accordée avec le titre de médecin principal honoraire. Dès ce moment, il ne s'occupa plus de médecine, mais, retiré à la campagne, à Cassano Magnazo, il consacra toute son activité à l'apiculture, dans laquelle il acquit bientôt une grande autorité.

Encore solide et plein d'activité, Angelo Dubini mourut le 28 mars 1902, à l'âge de 88 ans, à la suite d'une fracture du fémur.

Mon oncle, le Dr P. Galli, qui fut lié d'amitié avec Dubini, disait souvent de lui qu'il était un savant et un homme de cœur. Si nous le suivons, en effet, dans toute sa carrière, nous pouvons constater la vérité de cette affirmation. Son œuvre prouve qu'il était un savant. Elle comprend 54 travaux très favorablement connus, plus un grand nombre de revues et d'analyses publiés dans différents journaux de médecine. Parmi ces travaux, les uns ont trait à l'anatomie, d'autres à l'anatomie pathologique, à la pathologie interne, à la thérapeutique, à la dermatologie, à la parasitologie et enfin, les derniers, à l'apiculture. Cet homme qui, outre un service d'hôpital très chargé, avait une des plus grandes clientèles de Milan, trouvait encore le temps de publier de nom-

breux travaux d'une réelle valeur. Mais il était préparé au travail scientifique, car, pendant ses pérégrinations en Europe, grâce à une activité vraiment extraordinaire, il avait trouvé moyen de tirer profit de l'enseignement d'un grand nombre de maîtres.

stante la straordinaria mollezza delle ossa) N. III. — (a)
IV. Che si trovarono nella cavità del cranio gli indizii di una [illegible] passata all'esito di trasudamento sieroso, di adesione ecc. ecc. come emerge dall'esposto al N. III.
V. Che finalmente all'infiammazione degli involucri del cervello ed agli esiti che l'hanno seguita si può ragionevolmente ascrivere la causa di morte, perchè per se stessi atti a produrla, mentre quelli degli altri visceri non ne presentarono una sufficiente.
La presente relazione è il desunto della più attenta ricerca e della più matura riflessione e in quanto a me sembra in tutto corrispondente ai principii della scienza medica, della [illegible] ho creduto di mio dovere rassegnare questo I. R. Tribunale.

Dato li di —

Angelo Dubini
Medico-Chirurgo

Autographe d'A. Dubini.

Mais il était aussi un homme de cœur ; toute sa vie le démontre. Il me suffira de dire, qu'en 1836 et 1837, encore étudiant en médecine, il accourut au milieu des malades du choléra ; en 1849, on le trouve encore dans la section de ces malades, à l'Hôpital majeur, où, à la suite de la mort du directeur du service, il prend sa place,

contracte à son tour le choléra et, à peine guéri, reprend ce même service, avec un zèle et un dévouement extraordinaires. En 1859, après Magenta, Solferino et San Martino, il prêta son concours aux hôpitaux militaires où s'amoncelaient les blessés italiens et français. Même retiré à la campagne, il sut se faire aimer par ses paysans et par tous ceux qui avaient affaire à lui (1).

L'œuvre parasitologique de Dubini consiste en quelques articles parus dans différents journaux de médecine et en un grand ouvrage consacré à l'étude des parasites animaux et végétaux qu'on peut rencontrer chez l'Homme.

Le premier de ces travaux a trait à l'agent parasitaire du favus (2). Dubini est tellement frappé par cette découverte, qu'il entrevoit le brillant avenir des études sur les parasites végétaux. *La découverte d'un parasite végétal sur le corps de l'Homme*, écrit-il, *comme cause d'une des maladies les plus graves et les plus difficiles à guérir, est pour moi un fait d'une importance telle, qu'il ne restera pas isolé, mais une fois connu et vérifié, il sera le point de départ de la découverte d'autres faits analogues.*

Ces quelques mots suffisent pour démontrer quels étaient l'esprit d'observation et l'intuition d'Angelo Dubini.

A ce travail fait suite un compte rendu des préparations anatomo-pathologiques que Dubini a eu l'occasion d'observer dans les musées de France, d'Allemagne et d'Angleterre (3). Dans ce travail il fait mention de quelques parasites, tels que la *Trichina spiralis* qu'il a observée à Londres, à Heidelberg et à Vienne ; le *Cysticercus cellulosae* dans l'œil d'un Homme à Heidelberg, etc.

Quelques mois plus tard, paraît son travail sur l'*Anchylostoma duodenale* (4). Ce travail, à cause de sa grande importance, mérite d'être résumé.

En 1828, à l'autopsie d'une paysanne morte à l'Hôpital majeur de Milan, Dubini trouve dans l'intestin un petit Nématode qui, comparé avec des Oxyures, des Trichocéphales et de jeunes Ascarides, lui semble tout à fait distinct. Le 9 novembre 1842, Dubini retrouve ce Ver dans l'intestin d'une vieille femme morte aussi à

(1) A. BERTARELLI, *In morte di Angelo Dubini*. Milano, 1902.
(2) *Gazzetta medica di Milano* n° 2, 15 settembre 1845.
(3) *Annali universali di medicina*. Milano, febbraio e marzo 1843.
(4) *Annali universali di medicina*, CVI, p. 5, Milano, aprile 1843.

l'Hôpital majeur et, le 13 décembre, chez un homme mort d'ictère. Dans tous ces cas ces Vers trouvés sont des femelles et Dubini remet la description du parasite pour pouvoir donner les caractères du mâle, lorsque le 15 et le 21 décembre de la même année, dans le jejunum d'une femme et d'un homme, il trouve respectivement 12 et 4 de ces Vers, parmi lesquels il y avait des mâles. Il lui manquait encore la démonstration du rôle pathogène du parasite ; il put l'avoir le 1er janvier 1843. En effet, à l'autopsie d'un homme mort de pneumonie double et de colite ulcéreuse, il trouve dans l'intestin beaucoup de ces Vers, dont deux sont appliqués par leur extrémité antérieure sur une valvule connivente qui est pointillée de rouge. Ensuite, il trouve plusieurs fois ces Nématodes, parfois en très grand nombre, libres ou adhérents par leur bouche à la muqueuse, soit chez des individus morts de diarrhée chronique, avec ou sans ulcères de l'intestin, soit chez des sujets hydropiques, dans l'intestin desquels il y a d'abondantes mucosités d'une coloration jaune rosée. Dubini remarque aussi ce fait que, chez quelques-uns de ces individus, la muqueuse intestinale est parsemée de points noirs siégeant sur l'extrémité des villosités. *Mes observations*, écrit-il alors, *me portent à croire que l'altération dont je parle, bien que singulière et peu connue, n'est pas sans valeur dans beaucoup de cas de diarrhée chronique.*

Trop modeste, Dubini n'ose pourtant pas affirmer le rôle pathogène du Nématode qu'il vient de découvrir, mais il note qu'on le trouve surtout chez des individus affaiblis, cachectiques, diarrhéiques et hydropiques. Ses observations le portent à admettre la présence de ce parasite dans 20 °/o des cadavres ouverts par lui dans le but de le rechercher. Dubini arrive à la conclusion, qu'il a affaire à un Nématode d'un nouveau genre et d'une nouvelle espèce, et il le nomme *Agchylostoma duodenale*. Voici la description minutieuse qu'il en donne :

« Genre : *Agchylostoma* (ἀγκύλος, crochet ; στόμα, bouche). Tête non distincte du corps; bouche orbiculaire, pourvue de quatre crochets repliés vers le centre et superposés à quatre éminences coniques qui proéminent du pharynx (fig. 1) ; œsophage renflé en bas en massue et distinct de l'estomac globuleux et noirâtre ; queue obtuse chez la ♀, dilatée en éventail chez le ♂.

» Espèce unique : *A. duodenale*. — Ver long de quatre lignes et

demie environ, transparent dans la partie antérieure et marqué de lignes jaunâtres, brunes ou rougeâtres dans les trois quarts postérieurs. Un point noir globulaire marque la limite entre la partie transparente et la partie colorée. La femelle se termine postérieurement par une queue obtuse, légèrement repliée. Le mâle, plus petit, a la queue plus recourbée et pourvue d'une dilatation membraneuse en éventail (fig. 2). Dans la queue sont placés les organes génitaux. Au microscope on constate que le Ver est enveloppé d'un derme transparent, rayé transversalement de minces stries. La tête présente à son extrémité quatre corpuscules bleuâtres, rapprochés les uns des autres quand la bouche est fermée. Si l'on examine une coupe transversale au

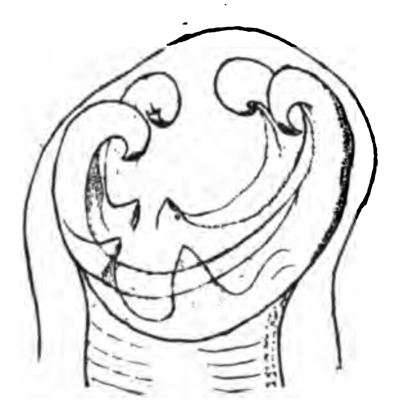


Fig. 1. — Extrémité antérieure d'*Anchylostoma duodenale*, d'après Dubini.

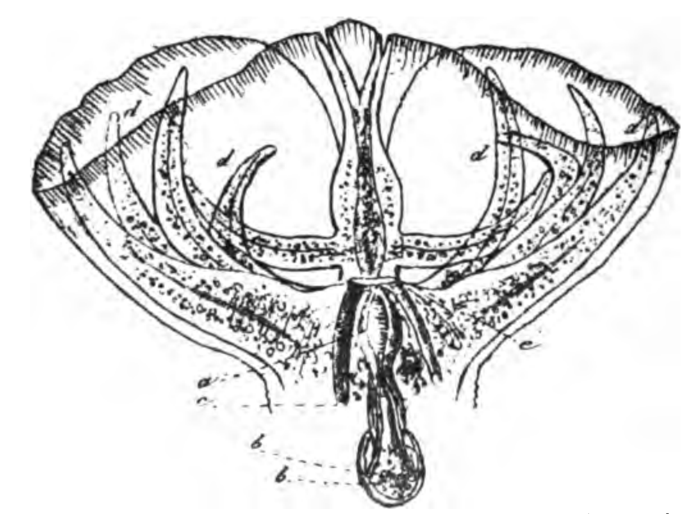


Fig. 2. — Extrémité postérieure d'*Anchylostoma duodenale* ♂, d'après Dubini.

microscope, on constate que ces quatre tubercules ne sont autre chose que les quatre crochets recourbés à l'intérieur, vers le

centre de la bouche. En dessous de ces crochets, il sort du pharynx infundibuliforme quatre petites proéminences coniques dirigées en haut, dont deux sont plus petites que les autres. L'œsophage s'élargit en bas, pour se rétrécir à son entrée dans l'estomac, où l'ouverture du cardia est entourée par quatre éminences molles, papilleuses, qui pendent dans la cavité de l'estomac.

» L'estomac, rempli de matières noires, se prolonge dans l'intestin, qui, avec des renflements irréguliers, se dirige vers l'extrémité postérieure du Ver et s'ouvre dans une fissure latérale à l'extrémité de la queue. Chez la femelle, l'intestin est enveloppé par l'oviducte, dans lequel on observe des œufs elliptiques, tandis que, chez le mâle, il est enveloppé par le canal spermatique flexueux qui, vers la moitié de la longueur du Ver, s'élargit en une espèce de vésicule séminale pour se porter ensuite, de nouveau aminci, vers les organes génitaux de la queue. Celle-ci est composée par la dernière partie de l'intestin qui s'ouvre au milieu de la queue par une ouverture circulaire, par le pénis en forme de massue auquel aboutissent les deux petits conduits déférents et enfin par une dilatation membraneuse qui forme une sorte d'entonnoir, dont les parois transparentes sont renforcées par onze appendices en cul-de-sac que j'ai appelés, avec quelque hésitation, séminaux, ne connaissant pas leur véritable fonction. »

Cette description excellente, bien que contenant quelques interprétations erronées, est accompagnée par deux planches qui donnent des dessins très bons du ♂ et de la ♀ dans l'ensemble et dans leurs détails.

Quelques années plus tard, dans un livre que j'analyserai plus loin (1), Dubini a modifié quelque peu et complété la description que je viens de reproduire. Il a d'abord changé la dénomination primitive d'*Agchylostoma* en celle d'*Anchylostoma*, plus en rapport avec la traduction latine des noms grecs. Ensuite il a décrit deux petites proéminences coniques de la cuticule, opposées l'une à l'autre et placées entre le sixième antérieur et les cinq sixièmes postérieurs de la longueur du corps, proéminences qui ont été décrites de nouveau en 1881 par Bugnion sous la dénomination de papilles coniques (2). Il a bien indiqué les deux spicules du ♂, les

(1) *Entozoografia umana*. Milano, 1850.
(2) *Revue médicale de la Suisse romande*, n°s 5 et 7. 1881.

deux ovaires de la ♀, les dix côtes dont la moyenne est bifide, la vulve s'ouvrant entre le tiers inférieur et les deux tiers supérieurs du corps de la ♀. Il admet en outre, avec Delle Chiaje qui, en 1846, avait examiné ses exemplaires d'Anchylostome, que la tache noirâtre qu'il avait décrite en 1843 comme étant l'estomac, n'est que le commencement de l'intestin. Dans ces nouvelles observations Dubini insiste sur le fait que l'*Anchylostoma* adhère par sa bouche à la surface de l'intestin, de laquelle on a beaucoup de peine de le détacher, et sur les pointillés rouges ou bruns qu'on observe dans le duodénum et dans le jéjunum des individus porteurs du parasite. Il ajoute : *Dans quelques cas, le nombre des Anchylostomes est tellement prodigieux et tellement grande est la quantité de mucus qui leur sert de lit et peut-être d'aliment que, s'il n'y a pas d'autres lésions visibles, il semble naturel de croire que la maladie et la mort sont dus exclusivement à leur présence, et d'admettre sans scrupules une affection vermineuse à Anchylostomes.*

A l'appui de cette idée, Dubini cite le cas d'une autopsie pratiquée à l'Hôpital majeur en 1844 par le Dr Castiglioni, autopsie dans laquelle, chez une femme âgée, cachectique, diarrhéique et anémique, il n'y avait d'autre lésion que des centaines d'Anchylostomes dans le jéjunum.

Telle est la description complète que Dubini nous a laissée de l'*A. duodenale* et des troubles morbides qu'il peut provoquer chez l'Homme. On ne pourrait pas désirer mieux. Très peu de modifications ont été apportées à la description générale de l'Anchylostome telle qu'elle a été faite par Dubini. Quant à la description des lésions observées, elle est excellente : nous savons aujourd'hui que l'anémie, la cachexie, l'hydropysie, la diarrhée, s'observent chez les individus atteints d'Anchylostome ; que dans leur intestin on trouve des quantités très grandes de mucus, que la surface de la muqueuse est parsemée de points rouges ou ardoisés, dus aux piqûres du parasite. Or tous ces faits ont été mis en relief par Dubini. Pourtant, il est curieux de lire dans tous les traités de parasitologie et de médecine, que l'Anchylostome a été trouvé par Dubini dans l'intestin d'une paysanne morte en 1838 à Milan, sans autres renseignements, comme s'il s'agissait d'une trouvaille accidentelle dans une autopsie! Quant à celui qui aurait le premier indiqué le rôle pathogène de l'Anchylostome, ce serait Griesinger,

comme nous le trouvons indiqué, entre autres, dans l'excellent travail de Zinn et Jacoby (1). Or les travaux de Griesinger n'ont paru qu'en 1853 et 1854, tandis que le premier travail de Dubini a paru en 1842 et le second, présenté à la commission pour le prix Dell'Acqua en 1848, a paru en 1850. Dubini a donc eu le grand mérite, non seulement d'avoir découvert et bien décrit l'*A. duodenale*, mais en même temps d'avoir indiqué les lésions qu'il détermine et le rôle pathogène qu'il peut jouer chez l'Homme. Si, comme pour la trichinose qu'on avait proposé d'appeler maladie de Zenker, l'Anchylostomose devait porter le nom d'un savant, il serait de toute justice de l'appeler maladie de Dubini.

Angelo Dubini a enrichi la parasitologie d'une nouvelle espèce de Nématode et, ce qui est de la plus grande importance pratique, d'un Nématode qui joue un rôle extrêmement important dans la pathologie de l'Homme. Observé en Europe, en Afrique, en Asie, en Océanie et en Amérique, il est l'agent de l'anémie des mineurs, des briquetiers, de la chlorose d'Egypte, de l'anémie tropicale, etc. La connaissance de ce parasite redoutable nous a donné les moyens de pouvoir lutter efficacement contre lui, soit au point de vue curatif, soit au point de vue prophylactique. Les brillants résultats obtenus dans l'épidémie du Saint-Gothard, les mesures prophylactiques appliquées dans le percement d'autres tunnels et dans les mines sont là pour le démontrer. Si Angelo Dubini n'avait rien publié d'autre, ses travaux sur l'Anchylostome seraient suffisants pour lui assurer une place de premier ordre parmi les parasitologues.

Mais le goût de Dubini pour les études de parasitologie l'amenait à publier, en 1850, son traité des parasites animaux et végétaux de l'Homme (2). Ce gros volume de 544 pages, avec de nombreuses planches sur cuivre, est, à ma connaissance, le premier essai fait au XIXe siècle, pour donner une idée d'ensemble des parasites animaux et végétaux de l'Homme, de leur rôle pathogène et du traitement à leur opposer. Par cet ouvrage, Dubini démontrait aux médecins l'importance et l'utilité des connaissances de parasitologie. Si nous parcourons ce livre, nous y trouvons d'abord une bonne

(1) W. Zinn und Jacoby, *Ankylostomum duodenale*. Leipzig, 1898.

(2) *Entozoografia umana*, etc. Milano, 1850.

bibliographie des travaux d'helminthologie humaine publiés après Rudolphi. Suit un chapitre de généralités sur les helminthes de l'Homme, où l'on trouve beaucoup de notes intéressantes et d'observations personnelles. Il y combat l'idée de Rudolphi que l'Ascaride de l'Homme soit identique à celui du Cheval et dit que ses observations microscopiques le rattachent à Blanchard qui avait séparé ces deux Nématodes. Il attire l'attention sur ce fait que, si les médecins affirment ne point trouver d'helminthes aux autopsies, c'est qu'ils ne savent pas les chercher, et, à ce propos, il cite le cas d'un assistant de la clinique de Montpellier qui lui affirmait qu'on n'y observait jamais ou très rarement de Trichocéphales et à qui il les démontra séance tenante sur un cadavre, chose, écrit-il, qui produisit un grand étonnement chez ce médecin et d'autres qui assistaient à l'autopsie. Il s'élève contre l'idée de la génération spontanée des vers, qui dominait encore chez bon nombre de médecins, et ajoute que, si l'on ne connaît pas l'évolution de plusieurs d'entre eux, de nouvelles recherches pourront nous renseigner. C'est dans cette première partie que Dubini nous donne une idée approximative de la fréquence des helminthes à Milan. Plus de la moitié des enfants ont des Oxyures et des Ascarides; presque toutes les personnes ont des Trichocéphales ; les Anchylostomes se trouvent chez 20 °/₀ des cadavres ; le *Tænia solium* n'est pas trop fréquent, le *Bothriocephalus latus* se rencontre quelquefois et, ajoute Dubini, on dit que tous les Genevois en ont ; sur 3.000 cadavres il n'a trouvé qu'une fois deux Distomes dans les veines biliaires ; les cysticerques sont très rares mais l'Echinocoque est plus fréquent.

Cette partie générale est suivie de la description d'une trentaine de Vers, de l'indication des troubles morbides qu'ils peuvent provoquer et de données sur le traitement. C'est dans cette partie qu'on trouve le chapitre consacré à l'Anchylostome, dont j'ai précédemment parlé, et de très bonnes observations microscopiques sur *Ascaris lumbricoïdes*, *Tænia solium* et *Bothriocephalus latus*. Après quelques pages sur les Pseudohelmintes et les Infusoires, Dubini donne un exposé général de l'helminthiasis et des antihelminthiques, indiquant une quantité de substances et de formules qui mériteraient d'être consultées par tous ceux qui s'occupent de cette partie de la thérapeutique.

Une autre partie du volume est consacrée aux Epizoaires. C'est ici que Dubini parle du *Demodex folliculorum* qu'il a trouvé souvent dans les follicules pileux et dans les glandes sébacées du nez, sans se prononcer sur son rôle pathogène. Il y donne aussi une excellente description du *Sarcoptes scabiei* et il raconte comment, en 1842, se trouvant à Paris, à l'hôpital Saint-Louis, il fut plusieurs fois invité par les professeurs Gibert, Cazenave et Devergie a mettre en évidence le *S. scabiei*. *Moi*, écrit-il, *comme italien, je devais savoir le trouver parce que, dans le dit hôpital, on croit que tous en Italie, médecins et non médecins, sont capables de l'extraire comme Renucci qui fut le premier à le faire connaître aux professeurs Biett, Rayer, etc.* Intéressante observation, qui nous démontre quel retentissement avait eu à Paris la célèbre démonstration faite par Renucci en 1834. Comme plusieurs médecins avaient encore des doutes sur le rôle pathogène du *S. scabiei*, Dubini relate quelques expériences faites par lui-même. Il avait placé des *S. scabiei* sur son bras, les couvrant avec un verre de montre et en avait suivi le travail avec une loupe. La description qu'il donne de ces expériences est très intéressante et démontre chez Dubini un grand goût pour les recherches expérimentales et un grand esprit d'observation. Ces essais lui donnèrent au bout d'un mois une gale généralisée, mais il fut heureux de pouvoir ainsi démontrer que l'*éruption psorique est due à l'action du Sarcoptes et qu'en plaçant ce parasite sur la peau, il nous est permis de reproduire la lésion à volonté*. Plus tard Dubini reprenait l'étude du *Sarcoptes scabiei*, surtout au point de vue de sa résistance en dehors de l'organisme et en présence de différents médicaments (1).

D'autres épizoaires sont passés en revue dans le traité de Dubini, tels que les Poux, les Puces, etc., et, dans un appendice, il parle aussi de différents invertébrés qui peuvent piquer l'Homme.

La dernière partie du livre est consacrée aux parasites végétaux dans lesquels, comme je l'ai déjà indiqué, Dubini avait entrevu, en 1842, des agents très importants de maladie. Il y parle de l'*Achorion Schönleini*, du *Microsporum Audouini*, de l'*Oïdium albicans*, et donne un tableau pour la diagnose de ces champignons. Il y ajoute aussi quelques notes sur les *Leptothrix, Bacterium termo, Sarcina ventriculi.*

(1) *Rendiconti delle Beneficenza dell' Ospedale maggiore di Milano per gli anni 1856-57.*

Le volume est enrichi de plusieurs planches sur cuivre, en grande partie originales et si bien faites, que Perroncito en a reproduit quelques-unes dans son traité de parasitologie publié en 1882.

Cet ouvrage, qui doit avoir coûté une grande somme de travail à Dubini, déjà surchargé par le service d'hôpital et par sa clientèle, est, pour l'époque à laquelle il a été écrit, de la plus grande valeur. Il est bien naturel qu'on y trouve indiquées des espèces qui ont été plus tard éliminées et des interprétations de faits qui ne correspondent pas à celles qu'on en donne aujourd'hui, mais il suffirait de l'essai fait de publier ce traité complet de parasitologie médicale, du chapitre sur l'*Anchylostoma duodenale,* de celui sur la gale, des nombreuses recherches microscopiques et des belles planches, pour faire occuper à l'*Entozoografia* de Dubini une place importante parmi les travaux de parasitologie. Les membres de la Commission qui adjugea à ce livre le prix Dell'Acqua avaient donc raison d'écrire dans leur rapport :

Dans son ensemble, ce mémoire est digne de grands éloges pour sa profonde érudition, parce qu'il réunit à une bonne critique, tout ce qui a été écrit de mieux sur l'helminthologie; parce qu'il a été enrichi de la description d'un Helminthe jusqu'ici inconnu, avec la rectification de quelques observations erronées de fine anatomie des Helminthes, et complété par un grand nombre de planches descriptives.

Angelo Dubini, en écrivant ce livre, était convaincu du rôle important que la parasitologie aurait à jouer bientôt en pathologie, car il concluait par ces paroles : *Je suis convaincu que la simple notion de la présence de ces êtres dans l'organisme de l'Homme et avec elle la possibilité de se rendre compte de certaines maladies, doit éveiller des idées bien différentes de celles des altérations des humeurs et de la phlogose, dans lesquelles nos ancêtres se sont perdus et où se perdent encore beaucoup de nos contemporains, croyant expliquer ce qui reste encore à expliquer.*

Angelo Dubini mérite donc une bonne place parmi ceux qui, dans la première partie du XIXe siècle, ont contribué à jeter les bases de nos connaissances parasitologiques actuelles. Et si je devais le placer à côté de quelqu'un, ce serait à côté de David Gruby, dont il a été l'élève et l'ami. Comme lui, occupé journellement dans la lutte pour la vie, il a su ne pas oublier les recherches scientifiques et accomplir une œuvre qui restera. Si ces deux

hommes avaient pu occuper une chaire, ils auraient certainement brillé parmi les plus grands parasitologues du siècle qui vient de finir. Pour nous autres Italiens, Angelo Dubini a encore un autre grand mérite, c'est celui d'avoir réveillé en Italie le goût des études de parasitologie.

Rudolphi avait écrit en 1808 : *Italia, plurimis et anatomicis et naturæ scrutatoribus merito celeberrima, nullum tamen obtulit virum, qui, vermes intestinales a Redio detectos examinando et describendo, votis nostris satisfecerit.*

Dubini, par son œuvre, a démenti ces paroles et l'Italie a repris rapidement sa place importante dans le domaine des études parasitologiques.

Il est à espérer que l'Hôpital majeur de Milan, qui a vu pendant 40 ans Angelo Dubini à l'œuvre, voudra bien lui dédier un souvenir qui rappelle le médecin philanthrope, le savant et surtout celui qui par la découverte de l'*A. duodenale* a permis de sauver la vie à tant de malheureux.

Liste des Travaux de Parasitologie publiés par A. Dubini

1. — Sulla natura della tigna vera o favosa. *Gazetta medica di Milano*, n° 2, 15 settembre 1842.

2. — Nota succinta delle più importanti preparazioni anatomo-patologiche ora esistenti nei principali Musei della Francia, dell'Inghilterra e della Germania. Materiali per servire al progresso dell'anatomia patologica, raccolti e in parte commentati. *Annali universali de medicina*, Milano, febraio mazaro 1843.

3. — Nuovo Verme intestinale umano (*Agchylostoma duodenale*), costituente un sesto genere di Nematodei propri dell' Uomo. Con due tovole. *Annali universali di medicina*, CVI, p. 5, 1843.

3. — *Entozoografia umana per servire di complemento agli studi di anatomia patologica*, con XV tavole in rame rappresentanti i Vermi propri dell'Uomo e molti dei quali disegnati dal vero, ingranditi e notomizzati. Seguita da un appendice sui parasiti esterni del corpo umano tanto animali che vegetabili parimenti representati con tavole. Opera alla quale venne aggiudicato il premio Dell'Acqua per l'anno 1848 da la Commissione a ciò scelta dall'Ospedale maggiore di Milano. Milano, 1850.

5. — Su la durata della vita degli Acari della scabbia fuori della pelle in contatto di diverse sostanze. *Rendiconto della Beneficenza dell'ospedale maggiore di Milano per gli anni 1856-1857.*

QUI A VU LE PREMIER
L'HÉMATOZOAIRE DU PALUDISME ?[1]

PAR

RAPHAËL BLANCHARD

Il arrive fréquemment qu'une découverte, annoncée et acceptée comme telle, ait été entrevue déjà par un ou plusieurs observateurs qui n'avaient point su en comprendre l'intérêt. L'importante découverte de l'Hématozoaire du paludisme est dans ce cas. Comme on sait, c'est le 23 novembre, puis le 23 décembre 1880 que Laveran fit connaître à l'Académie de médecine l'existence d'un parasite particulier dans le sang des malades atteints de fièvre palustre, démontrant ainsi la nature parasitaire des accidents de l'impaludisme. Or, deux fois déjà, l'Hématozoaire de Laveran avait été observé, sans exciter d'ailleurs l'intérêt dont il était pourtant si digne.

1° OBSERVATIONS DE KLENCKE, 1843. — Je compulsais récemment un ouvrage de Klencke (2), aujourd'hui bien oublié, mais digne d'un meilleur sort, car, à la suite des livres mémorables de Raspail et de Donné, il est l'un des premiers où soient relatées des études anatomo-pathologiques faites à l'aide du microscope. J'y voulais lire deux mémoires concernant des Champignons rencontrés dans le corps humain ; j'y trouvai aussi un article intitulé : « *Merveilleux parallélisme entre les manifestations du vertige et la présence d'animalcules Infusoires dans le sang vivant* » et accompagné de figures vraiment surprenantes.

L'interprétation du texte et des figures n'a rien de difficile : sans aucun doute, les « animalcules Infusoires » observés par Klencke

(1) Communication faite à la Société française d'histoire de la médecine, dans sa séance du mercredi 11 février 1903.

(2) P. F. H. KLENCKE, *Neue physiologische Abhandlungen auf selbstständige Beobachtungen gegründet.* Leipzig, in-8° de VII-318 p. avec 4 pl., 1843. -- Cf. III, *Merkwürdiger Parallelismus zwischen den Erscheinungen des Schwindels (Vertigo) und der Gegenwart infusorieller Thierchen im lebenden Blute*, p. 163-172, fig. 25.

ne sont autre chose que les « flagelles » de Laveran, c'est-à-dire les microgamètes de la Plasmodie paludique, pour employer la terminologie actuelle. La Plasmodie elle-même n'a pas été définie à l'intérieur de l'hématie parasitée, mais elle se trouve implicitement décrite et figurée, puisque Klencke représente des globules chargés de pigment noir et dit expressément que de tels globules ne se trouvent que dans le sang de personnes atteintes de « vertiges ». Quant aux « corps en croissant » et aux « corps sphériques », c'est-à-dire aux microgamétocytes, ils ont été vus, et ils sont même figurés, puisque Klencke représente des microgamètes en voie de formation; il dit nettement que les « animalcules Infusoires » prennent naissance à la surface de globules que, à vrai dire, il ne distingue pas suffisamment des hématies.

« Depuis longtemps, écrit-il, je connaissais très exactement l'état microscopique de mon sang... Je n'ai pu alors découvrir jamais aucune trace d'entozoaires et je me trouvais très bien portant.

» Mais, depuis quelques mois, j'ai été pris *périodiquement d'accès de vertige soudains*, qui ne duraient pas plus de cinq minutes au maximum et d'ordinaire étaient assez fréquents... Par hasard je portai, aussitôt après un tel accès de vertige, une goutte de mon sang sous l'oculaire... de mon grand instrument de Schiek et je remarquai... de petits animalcules de différente grosseur, ressemblant à des Serpents ou à des Poissons, qui se mouvaient très vivement, les uns en nageant comme les Serpents, les autres, plus gros, en rampant comme les Chenilles. Les plus petits avaient à peine une longueur égale au tiers d'une hématie, les plus grands dépassaient du triple le diamètre d'une hématie. Les globules étaient nettement jaunâtres, *quelques-uns même étaient brunâtres*... Au bout d'un quart d'heure..., les entozoaires commençaient à disparaître sans laisser de trace.

» *Les entozaires entouraient ordinairement un globule déterminé et ne se détachaient pas, en sorte que je n'ai jamais vu les animalcules se porter d'un globule à l'autre. Cela est vrai des petits animalcules, tandis que les grands n'étaient en connexion avec aucun globule* : ils rempaient comme des Chenilles, sans avoir d'avant ni d'arrière bien définis, puisqu'ils avançaient tantôt par une extrémité et tantôt par l'autre. Le mouvement des grands animaux était lent ; ils ne

présentaient aucune structure et étaient pâles et transparents. Au contraire, les petits animaux brillaient comme de l'argent sur les globules sanguins troubles ; *ils s'incurvaient d'un mouvement rapide autour du globule, en s'attachant en un point de celui-ci par une extrémité paraissant correspondre à la tête*, ou bien en se détachant pour se fixer de nouveau un peu plus loin. Le mouvement était périodique ; quand il avait persisté environ cinq minutes, l'animal se ramassait sur lui-même pendant dix minutes, puis gisait mollement sinueux, mais immobile. Les grands animaux se laissaient souvent empêtrer par la fibrine coagulée et s'ils n'avaient pas remué lentement de temps à autre, on n'aurait pas pu les distinguer des filaments de fibrine.

» Une gouttelette d'eau placée sur le porte-objet tuait rapidement toute vie des Infusoires... Les grands entozoaires devenaient très pâles et de contour indécis, mais les petits animalcules disparaissaient sans laisser de traces et se dissolvaient complètement, à peu près comme un morceau de sel dans l'eau...

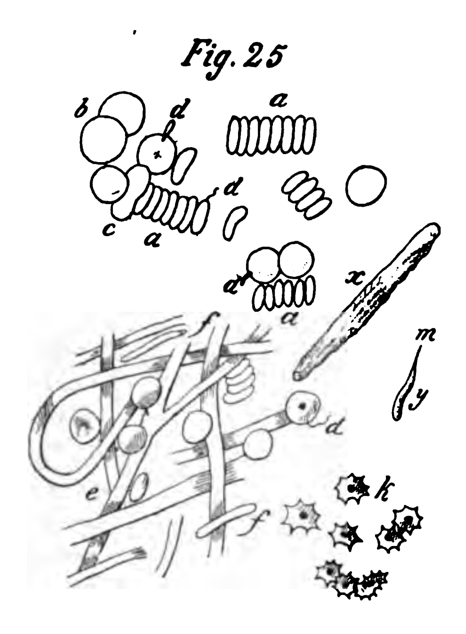
» Après cette observation sur moi-même, j'examinai chaque jour mon sang et je remarquai alors les faits suivants. Peu de temps *avant* l'accès de vertige, je trouvais les animalcules en très grand nombre, 5 à 8 pour 1.000 globules, et alors extrêmement agiles. Peu de temps *après* le vertige, je les voyais en aussi grand nombre, mais leurs mouvements étaient plus languissants, plus tremblants et entrecoupés de repos plus longs. Quand j'étais resté 8 à 10 jours sans vertige, je ne pouvais découvrir aucun entozoaire...

» *Le parallélisme dans l'apparition des entozoaires et des accès de vertige est vraiment surprenant* et pourrait très facilement faire conclure à une étroite connexion des deux phénomènes... Maintenant se présente cette question : quelle relation existe-t-il entre les entozoaires et le vertige ? Causent-ils le vertige par leur présence, leur excitation, par les modifications qu'ils font subir aux globules *(qui dans tous les cas présentent davantage de pigment)* ?

» Il va sans dire que j'ai recherché sur d'autres personnes si les observations faites sur moi même étaient constantes. J'ai été surpris de retrouver les mêmes entozoaires chez cinq individus.... J'ai observé les 4e et 5e cas chez des *hypochondriaques souffrant de colique, de vertiges et de tremblement des membres...* »

J'ai traduit aussi fidèlement que possible les passages les plus

caractéristiques du mémoire de Klencke, en soulignant ceux qui me semblent tout à fait démonstratifs. La description qu'il donne des microgamètes est vraiment remarquable pour l'époque d'où elle date. Je ne crois pas qu'on puisse sérieusement contester l'interprétation que je propose de cette curieuse description : elle paraîtra encore plus évidente, si l'on veut bien se reporter à la figure 25 ; nous la reproduisons avec sa légende originelle, puis nous transcrivons cette dernière en langue moderne.



EXPLICATION DE LA FIGURE 25 (× 410 diamètres).

a, globules du sang reposant sur la tranche et disposés en file. — b, globules reposant sur la face. — c, *un globule étiré en forme de violon. Cette forme était très fréquente, sans résulter d'une dépression causée par les globules voisins.* Il semble que, par perte de son élasticité, le globule ait conservé l'impression produite précédemment par les globules voisins. — d, petits entozoaires fixés à un globule. — e, coagulum fibrineux emprisonnant des globules. — f, grands entozoaires rampant à la façon des Chenilles. — k, modification spontanée des hématies après un quart d'heure, sans qu'aucun réactif extérieur, pas même l'eau, ait été porté à leur contact. — x, les animaux à l'aspect de Chenilles à un grossissement de 800 diamètres. — y, les petits entozoaires à un grossissement de 800 diamètres ; en m semble être la tête.

Interprétation de la figure 25.

a, hématies empilées. — *b*, hématies vues de face. — *c*, corps en croissant. — *d*, divers « corps sphériques » ou microgamétocytes en train d'émettre des « flagelles » ou microgamètes. — *e*, coagulum fibrineux emprisonnant des hématies et des microgamétocytes. — *f*, microgamète libre. — *k*, groupe de huit hématies crénelées (par dessiccation) et renfermant des Plasmodies, comme le prouve l'amas central de pigment noir. — *x*, microgamète libre (?). — *y*, microgamète libre. — Les figures *a-k* sont grossies 410 fois en diamètre; les figures *x* et *y* sont à un grossissement de 800 diamètres.

Il ressort nettement de tout cela que Klencke était atteint de fièvre quotidienne de type irrégulier et que son rang renfermait en abondance le *Plasmodium præcox*; c'est lui qui a vu, décrit et figuré le premier, dans quelques-unes de ses phases évolutives, l'Hématozoaire qui cause la fièvre quotidienne. Sa description n'est pas assez précise pour qu'on puisse dire si, chez les cinq malades où il a vu également des Hématozoaires, ceux-ci appartenaient à la même espèce parasitaire ou à l'une quelconque des deux formes voisines.

Il peut paraître surprenant que notre auteur n'ait pas diagnostiqué plus exactement la maladie dont il était atteint, ainsi que les cinq individus examinés par lui, et l'ait qualifiée simplement de « vertiges ». En réalité, rien n'est plus naturel. Certes, la fièvre intermittente était alors connue depuis longtemps et ses divers types étaient établis, mais on était bien loin d'en connaître toutes les manifestations et tous les symptômes avec autant de netteté qu'aujourd'hui. Ce sont les médecins français, à la suite de la conquête de l'Algérie, qui ont fait l'étude systématique de l'endémie paludique et nous ont appris à la bien connaître. Or, Klencke publie en 1843 des observations qui, son texte le laisse comprendre, remontaient déjà à quelque temps ; il en était donc resté forcément au diagnostic vague et incertain qui avait cours à son époque. Que ses « vertiges » n'aient été autre chose que des accès fébriles, c'est l'évidence même : leur périodicité le montre déjà, mais la conviction s'impose, quand on constate que deux des cinq individus qu'il dit avoir examinés étaient pris en même temps de tremblement des membres. Il est donc superflu de discuter les relations de l'hypochondrie, des hémorrhoïdes et des autres symptômes qu'il énumère avec le paludisme.

2° OBSERVATIONS DE MAXIME CORNU, 1871. — Les faits dont il va maintenant être question n'ont jamais été publiés ; ils ne sont pas absolument inédits, puisqu'un certain nombre de médecins parisiens les connaissent par communication orale. Je suis de ce nombre depuis assez longtemps, sans pouvoir dire de qui je les tiens. Je n'en eusse sans doute point parlé, vu le vague de mes renseignements, si je n'avais reçu du Professeur Brissaud la lettre suivante, qui expose la question de la façon la plus complète :

Paris, le 11 février 1903.

Cher collègue et ami,

Je lis dans l'ordre du jour de la séance d'aujourd'hui (1) l'annonce d'une communication de vous, intitulée : « Qui a vu le premier l'Hématozoaire du paludisme ? » Je ne sais quelle sera votre conclusion, mais peut-être ne vous semblera-t-il pas sans intérêt que je vous signale le fait suivant.

En 1871, je préparais la licence ès-sciences naturelles à la Sorbonne et je travaillais dans les laboratoires de Paul Bert, Hébert et Duchartre. Ce dernier avait pour préparateur Maxime Cornu, mort, il y a trois ans, professeur de culture au Muséum. Cornu, à cette époque, étudiait avec prédilection les Saprolégniées. Il avait été, avant la guerre, un des plus fervents admirateurs de Pasteur à l'École Normale et je crois me rappeler, mais ceci je ne l'affirme pas, que Pasteur l'avait encouragé à étudier spécialement la cryptogamie.

En tous cas, voici ce que je sais bien : c'est que Maxime Cornu était Solognot (2) ; il passait tout le temps de ses loisirs dans sa famille, entre Romorantin et Tremblevif (3) ; la flore des étangs de Sologne n'avait pas de secrets pour lui, et il fut un des *paludéens* les plus caractérisés que j'aie connus.

Or, en 1871, il avait déjà cherché des *Champignons* dans son propre sang, au cours ou à la suite de ses accès fébriles, et il avait trouvé des formes organisées qui lui paraissaient en être.

Plus tard, alors qu'il avait complètement abandonné l'organographie et la classification végétales, je lui parlai de la découverte de Laveran et je lui rappelai nos conversations de jadis et sa propre découverte. Il me dit qu'il connaissait les descriptions de Laveran et qu'elles répondaient absolument à ce qu'il avait vu lui-même. Seulement il convenait que le poly-

(1) Quelques jours avant la séance de la Société française d'histoire de la médecine, il est envoyé à tous les membres une convocation imprimée, indiquant l'ordre du jour.

(2) C'est-à-dire originaire de la Sologne, contrée marécageuse englobée dans le département de Loir-et-Cher — R. BL.

(3) Nom de localité évidemment tiré de ce que les habitants sont sujets à de fréquents accès de fièvre. — R. BL.

morphisme du parasite l'avait déconcerté; et puis il s'accusait d'avoir toujours systématiquement renoncé à l'emploi des matières colorantes dans la technique d'histologie végétale.

Je ne serais pas, d'ailleurs, surpris que Maxime Cornu eût rappelé à M. Laveran lui-même ce que je viens de vous dire.

Si cette réminiscence a quelque intérêt, c'est parce qu'elle se rapporte à la découverte d'éléments parasitaires dans le sang d'un paludéen, faite par un cryptogamiste d'une compétence indiscutée, élève de Pasteur, Solognot et paludéen lui-même.

Cordialement à vous, cher Président et ami,

E. Brissaud,
Professeur à la Faculté de médecine de Paris.



Il est donc établi que Klencke en 1843 et Maxime Cornu en 1871 ont été les premiers à observer l'Hématozoaire du paludisme. Au point de vue de la priorité absolue, les observations de Cornu ne peuvent être prises en considération, puisqu'elles sont toujours demeurées inédites et que la lettre ci-dessus est apparemment le premier document imprimé où il en soit fait mention. Mais que penser des observations de Klencke ?

Au point de vue absolu, la priorité est en faveur de Klencke; mais ce serait, pensons-nous, commettre une injustice que de s'en tenir à une pareille conclusion : *summum jus, summa injuria*, comme dit l'adage latin. Il est avéré que les Scandinaves avaient abordé en Amérique dès les époques les plus reculées et même qu'ils avaient avec ces terres lointaines des relations plus ou moins suivies; mais ils n'avaient aucune notion de leur étendue, de leur nouveauté et de leur avenir : Christophe Colomb les découvre à son tour et met en relief leur importance; aussi est-il à juste titre considéré comme le vrai découvreur du Nouveau-Monde. Il en est exactement de même pour Laveran : sans rien savoir des observations de Klencke, que les Allemands eux-mêmes ignorent encore à l'heure présente, il a réellement découvert un monde nouveau et a eu le grand mérite d'en comprendre et d'en indiquer la portée générale.

PROGRAMME

DES DÉMONSTRATIONS PRATIQUES

DE PARASITOLOGIE

PAR

le Dr JULES GUIART,

Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris,
Chef des travaux pratiques de parasitologie.

Nous donnons ci-dessous le programme des dix conférences pratiques de parasitologie qui sont faites aux étudiants en médecine de troisième année.

I. — TECHNIQUE BACTÉRIOLOGIQUE. — Nécessité des cultures pures.

Stérilisation. — 1° Par la chaleur sèche : flambage, four Pasteur, étuve de Salomonsen; 2° par la chaleur humide : autoclave de Chamberland et chauffage discontinu de Tyndall; 3° par filtration : bougie Chamberland, son essai et sa régénération; 4° par les antiseptiques : sublimé.

Milieux de culture. — Bouillon, gélatine, gélose, pomme de terre. Préparation de ces différents milieux; leurs avantages et leurs inconvénients.

Isolement des germes. — Isolement en boîtes de Pétri.

Ensemencements. — En milieu liquide : pipette Pasteur; en milieu solide : fil de platine (strie et piqûre).

Cultures. — Étuve et régulateur métallique de Roux. Caractères macroscopiques des cultures.

Conservation des cultures. — Réensemencement et repiquage; ampoules.

Isolement et culture des Anaérobies.

Inoculations expérimentales aux animaux.

II. — EXAMEN MICROSCOPIQUE DES BACTÉRIES. — *Examen à l'état frais.* — Cultures liquides; cultures solides; milieux pathologiques. Examen en goutte pendante.

Fixation. — Chaleur (cultures); alcool-éther (sang); sublimé acétique (pulpe et fragments d'organes).

Coupes. — Enrobage (étuve ou bain-marie); inclusion et coupes (microtome); déplissement et collage des coupes.

Colorations. — Couleurs d'aniline basiques (colorants nucléaires) et acides (colorants diffus). Installation nécessaire pour les colorations; principaux colorants. Coloration des Microbes vivants. Coloration des Microbes étalés sur lame et fixés.

Cultures. — Méthode à la thionine et méthode de Gram.
Sang. — Double coloration.
Fragments d'organes. — Triple coloration.
Coloration des coupes.
Coloration du Bacille tuberculeux.

Microscope. — Immersion homogène et condenseur Abbé ; revolver. Soins à donner à l'instrument.

Dessin des préparations microscopiques. — Chambre claire.

Mensuration des objets microscopiques. — Procédé de la chambre claire et du micromètre objectif.

Morphologie et classification des Bactéries.

III. — DERMATOMYCOSES (1). — Technique pour la culture et l'examen microscopique des Dermatophytes.

TEIGNES. — * Favus : *Achorion Schœnleini* et *A. quinckeanum*. — * Teignes tondantes trichophytiques ou à grosses spores : *Trichophyton tonsurans* var. *endothrix* (chez l'enfant) et var. *ectothrix* (chez les animaux et l'adulte). Ce parasite doit se diviser aujourd'hui en de nombreuses espèces : *Trichophyton crateriforme, T. Sabouraudi, T. violaceum ; Ectotrichophyton mentagrophytes, E. felineum, E. depilans, E. Megnini, E. verrucosum.* — * Teigne tondante de Gruby ou à petites spores : *Microsporum Audouini.*

Caractères des Champignons des teignes; leur place dans la classification botanique. Ce sont des Moisissures banales adaptées à la vie parasitaire.

Piedra : * *Trichosporon ovoïdes.*

CRASSES PARASITAIRES. — * Pityriasis versicolor : *Malassezia furfur.* — * Erythrasma : *Microsporum minutissimum.* — * Herpes circiné et ringworm tropical : *Trichophyton tonsurans.*

Mélanomycoses et * otomycoses : *Aspergillus* et *Sterigmatocystis.* — * Teigne imbriquée ou tokelau : *Aspergillus concentricus.* — * Caratés et pinta : *Aspergillus* divers et formes voisines.

* Blastomycoses de la peau. — Saccharomycose cutanée en Amérique et en Europe. — Relation des Blastomycètes avec les tumeurs : théorie blastomycétienne du cancer.

* Mal du frient : *Ustilago hypodytes ?*

IV. — DERMATOZOAIRES. — PROTOZOAIRES. — Le * *Coccidioïdes immitis.* Les psorospermoses et la théorie coccidienne du cancer.

ACARIENS. — TROMBIDIDAE : les larves de * *Trombidium* ou * Rougets (*T. holosericeum* et *T. gymnopterorum* en Europe; *T. americanum* et

(1) Nous avons donné, à titre de renseignement, les noms de tous les parasites rencontrés jusqu'ici chez l'Homme. Toutefois, étant donné le peu de temps réservé à ces travaux pratiques, il est impossible de donner sur tous des renseignements suffisants. On insiste donc plus particulièrement sur tous ceux dont le nom est précédé d'un astérisque.

T. irritans en Amérique) — *Tetranychus telarius* des Platanes de Paris et *T. molestissimus* ou Bicho-colorado de la République Argentine — *Cheyletus eruditus* — *Tydeus molestus* — * *Pediculoïdes ventricosus* : fièvre des foins.

GAMASIDAE : *Dermanyssus gallinae* et *D. hirundinis* — *Leiognathus sylviarum* — *Lælaps stabularis* — *Holothyrus coccinella*.

IXODIDAE : * Tiques ou Ixodes : *Ixodes ricinus* et *I. hexagonus* — *Hyalomma ægyptium* — *Dermacentor reticulatus* — *Rhipicephalus sanguineus* et *R. annulatus* — *Hæmaphysalis punctata* — * Garrapatas de l'Amérique tropicale : *Amblyomma americanum* et *A. dissimile*; *Dermacentor electus*; *Hæmaphysalis leporis*; * *Amblyomma cayennense*.

ARGASIDAE : *Argas reflexus* de France — * *Argas persicus* et *Ornithodoros Tholozani* de Perse — *Ornithodoros Savignyi* d'Afrique — *Ornithodoros turicata*; *O. Megnini*; *O. talaje* et *Argas miniatus* d'Amérique.

SARCOPTIDAE : *Tyroglyphus siro*, *T. entomophagus* et *T. longior*; leur rôle dans le * vanillisme — *Rhizoglyphus spinitarsus* — *Glyciphagus domesticus*; *Aleurobius farinae* des fromages — * *Sarcoptes scabiei*; gale; symptômes, diagnostic et traitement; gale des animaux; gale norvégienne. — *Chorioptes bovis*.

DEMODECIDAE : *Demodex folliculorum*; sa fréquence chez l'Homme.

INSECTES. — HÉMIPTÈRES : * Réduves d'Europe et « *Kissing Bugs* » d'Amérique : *Reduvius personatus*, *Melanolestes morio*, *M. abdominalis* et *Conorrhinus sanguisuga* — *Acanthia lectularia* ou * Punaise des lits — * Poux : *Pediculus capitis*, *P. vestimenti* et *Phthirius inguinalis*; symptômes, habitat, traitement.

DIPTÈRES : *Pulex irritans* ou * Puce; son rôle dans l'étiologie de la peste. — * Mouches piquantes : *Hippobosca equina*, *Stomoxys calcitrans*, *Glossina morsitans*, *Tabanus autumnalis* ou Taon, *Hæmatopota pluvialis*, *Chrysops cæcutiens*; leur rôle possible dans l'étiologie de certaines maladies parasitaires : charbon, bouton des pays chauds, tétanos, peste, tuberculose, lèpre et teignes. — * Moustiques : agents de transmission de la fièvre jaune, du paludisme et de la filariose (voir X, parasites du sang).

V. — TISSU CONJONCTIF ET MUSCLES. — CHAMPIGNONS. — * Actynomycose : *Discomyces bovis* — * Mycétome ou pied de Madura : 1° à grains blancs, produit par le *Discomyces Madurae*; 2° à grains noirs, produit par une Mucédinée. Considérations sur la famille des Oosporées; caractères différenciels avec les *Cladothrix*, qui sont des Bactériacées.

SARCOSPORIDIES. — *Miescheria muris* et *Balbiania mucosa*.

TRÉMATODES. — *Fasciola hepatica*, *Dicrocœlium lanceatum* et *Paragonimus Westermanni*, dans les kystes sous-cutanés. — *Monostomulum lentis* et *Agamodistomum ophthalmobium* dans l'œil.

CESTODES. — * Ladrerie : *Cysticercus cellulosae* ou larve du *Tænia solium*, dans le tissu conjonctif sous-cutané, les muscles, l'œil et le cerveau. — Ladrerie bothriocéphalique en Chine : * *Dibothrium Mansoni*.

NÉMATODES. — * Trichinose : *Trichinella spiralis*; évolution et diagnostic. — Filaires sous-cutanées : * *Filaria medinensis*, dracontiase ; * *F. volvulus*

et * *F. loa*; cette dernière plus souvent sous-conjonctivale. *F. perstans* et craw-craw; *Rhabditis Nyellii.* — Implantation de l'*Oxyurus vermicularis* dans la peau : * Oxyurase cutanée. Pénétration sous la peau des larves de l'*Uncinaria duodenalis.*

Acariens. — Pénétration possible des Ixodes sous la peau.

Diptères. — * *Sarcopsylla penetrans* ou Chique. — Larves cuticoles d'Œstres : * *Hypoderma bovis*, * *H. diana* et * *H. lineata*; * *Dermatobia cyaniventris* et ses deux formes larvaires. — Larves cuticoles de Muscides : *Anthomyia pluvialis, Lucilia cæsar*, * *L. macellaria, Ochromyia anthropophaga, Sarcophaga carnaria, S. magnifica.*

VI. — Tube digestif. — Protozoaires. — * *Amœba coli*; sa fréquence dans la dysenterie des pays chauds — *Coccidium hominis* et *C. bigeminum* — *Trichomonas vaginalis*; *Lamblia intestinalis.* — *Balantidium coli, B. minutum, Nyctotherus faba, Colpoda cucullus, Chilodon dentatus.*

Trématodes. — *Paragonimus heterophyes* — *Opisthorchis Buski* — *Amphistomum hominis.*

Cestodes. — * *Tænia solium*, * *T. saginata* et * *Bothiocephalus latus.* Symptomatologie; étiologie; caractères des anneaux et de l'animal entier; traitement. — *T. hominis, T. asiatica, T. confusa*; * *Dipylidium caninum*; * *Hymenolepis nana* (probablement identique à *H. murina*), * *H. diminuta*; * *Davainea madagascariensis* et *D. africana; Bothriocephalus cordatus;* * *Diplogonoporus grandis.*

VII. — Tube digestif (*suite*). — Nématodes. — * *Ascaris lumbricoïdes*; * *A. canis, A. maritima.* — * *Oxyurus vermicularis.* — *Strongylus subtilis.* — * *Uncinaria duodenalis* ou Ankylostome et *U. americana;* leur rôle dans l'étiologie des anémies. — * *Trichocephalus trichiurus.* — * *Strongyloïdes intestinalis.* — Rôle des Nématodes dans l'étiologie des entérites et en particulier dans la fièvre typhoïde, l'appendicite et la dysenterie.

Acanthocéphales. — *Giganthorhynchus gigas* et *G. moniliformis.*

Parasitisme accidentel des Gordiens : *Gordius aquaticus, G. pustulosus, G. tolosanus, G. tricuspidatus, G. Villoti* et *G. violaceus* en Europe; *G. chilensis* et *G. varius* en Amérique.

Parasitisme accidentel des Myriapodes; *Geophilus electricus, Chætechelyne vesuviana, Himantarium Gervaisi, Scutigera coleoptrata, Iulus terrestris, I. londinensis.*

Parasitisme accidentel des * Acariens : *Holothyrus coccinella, Carpoglyphus passularum* et *Aleurobius farinae.*

Parasitisme accidentel des larves de * Diptères : *Gastrophilus intestinalis; Phora rufipes;* * *Piophila casei* ou Mouche du fromage; * *Teichomyza fusca* ou Mouche des urinoirs; *Drosophila melanogastra; Homalomyia scalaris, H. canicularis, H. incisurata* ou * Entomies, *Hydrotæa meteorica; Musca domestica; Pollenia rudis; Calliphora vomitoria* ou Mouche bleue de la viande, *C. erythrocephala; Lucilia Cæsar, L. regina; Sarcophaga hæmorrhoïdalis, S. hæmatodes; Eristalis arbustorum; Helophilus pendulus.*

* Pseudo-parasites.

VIII. — Foie. — Coccidies. — Développement du * *Coccidium cuniculi* : * Schizogonie et sporogonie. Symptômes, étiologie et diagnostic de la * *Coccidiose hépatique.*

Trématodes. — * *Fasciola hepatica* ou * Grande Douve : Développement (*miracidium*, sporocyste, rédie, cercaire), hôte intermédiaire (*Limnæa truncatula*) ; étiologie ; symptômes, anatomie pathologique et diagnostic. — * *Dicrocœlium lanceatum* ou * Petite Douve ; hôte intermédiaire (*Planorbis marginatus*). — *Opisthorchis conjunctus* ; *O. felineus* ; * *O. sinensis*, anatomie pathologique et symptômes.

Cestodes. — * Kyste hydatique ou *Echinococcus polymorphus*, forme larvaire du * *Tænia echinococcus* du Chien. Les différents modes de transmission à l'Homme. Anatomie pathologique et diagnostic. * Echinococcose secondaire par greffe des têtes et des vésicules proligères dans la cavité péritonéale après rupture du kyste ou dans la cicatrice opératoire.

Linguatules. — *Pentastomum denticulatum*, forme larvaire de * *Linguatula rhinaris* ; fréquent mais peu grave. — *Pentastomum constrictum*, forme larvaire du * *Porocephalus constrictus* ; mortel en Afrique.

* Examen des matières fécales. — Diagnose des œufs provenant des parasites de l'intestin et du foie.

IX. — Bouche et Pharynx. — * Muguet ; affinités de l'*Endomyces albicans* ; biologie, symptômes et traitement.

Discomyces bovis et étiologie de l'* actinomycose buccale ; sa transmission par les épis de Graminées.

Amœba gengivalis. — *Trichomonas vaginalis.* — Parasitisme accidentel de la * *Limnatis nilotica* et de l'*Holothyrus coccinella.*

Fosses nasales. — *Linguatula rhinaris* adulte.

* Larves d'Œstres : *Calliphora vomitoria*, *C. limensis* ; *Sarcophaga magnifica*, *S. carnaria* ; * *Lucilia macellaria* ; *Chironomus plumosus.* — Parasitisme accidentel des * Myriapodes : *Geophilus carpophagus.*

Poumon. — * Actinomycose pulmonaire et *Discomyces bovis* ; symptômes, diagnostic, étiologie et prophylaxie.

Pseudo-tuberculose d'Eppinger et *D. asteroïdes.*

* Pseudo-tuberculose aspergillaire et *Aspergillus fumigatus.* Etiologie, symptômes et diagnostic.

Amœba pulmonalis. — *Trichomonas vaginalis.* — *Monas pyophila.* — *Fasciola gigantea.* — * *Paragonimus Westermanni* et distomatose pulmonaire. — *Strongylus apri* et pneumonie vermineuse. — * Kyste hydatique du poumon.

Eimeria hominis, Coccidie trouvée dans un liquide pleurétique.

Organes génitaux. — Homme. — Hydatides et Filaires du scrotum. — *Histiogaster spermaticus.*

Femme. — Vulve : muguet. — Vagin : * *Trichomonas vaginalis* ; Amibes ; parasites et œufs provenant de l'intestin ; *Rhabditis pellio* ; Sarcoptes. — Utérus : kyste hydatique.

X. — Sang et Lymphe. — Rôle de la * *Glossina morsitans* ou * Mouche tsé-tsé dans l'étiologie du * nagana par inoculation aux animaux de l'*Herpetomonas Brucei*. — Le *Trypanosoma gambiense* chez l'Homme.

Rôle des * Moustiques en pathologie : extérieur, anatomie, mœurs et classification des Moustiques. Principaux Moustiques pathogènes.

Moustiques et * filariose : rôle de la *Filaria Bancrofti* et de ses larves (*Filaria nocturna*) dans l'étiologie de l' * éléphantiasis et de la * chylurie intertropicale. Migrations de la Filaire chez le Moustique. — Autres Filaires du sang : *F. diurna*, *F. perstans*, *F. Demarquayi*, *F. Magalhãesi*, *F. Ozzardi*.

Moustiques et paludisme : évolution de l'Hématozoaire chez l'Homme (schizogonie) et chez l'*Anopheles* (sporogonie). Différentes espèces d'Hématozoaires : * *Plasmodium malariae*, * *P. vivax* et * *P. præcox*. Étiologie et prophylaxie du paludisme : destruction des larves; prophylaxie mécanique par les toiles métalliques; prophylaxie chimique.

Rôle probable des Moustiques dans l'étiologie d'autres maladies contagieuses : dermatomycoses, lèpre, peste, etc.

* Bilharziose et * *Schistosomum hæmatobium*; symptômes et étiologie.

Urine. — *Amœba urogenitalis*. — *Plagiomonas irregularis*. — Œufs du * *Schistosomum hæmatobium*. — *Dibothrium Mansoni*. — * *Eustrongylus visceralis*. — Embryons de * *Filaria Bancrofti*. — *Filaria restiformis*. — *Anguillula aceti*. — *Nephrophagus sanguinarius*.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

L. Bertrand et J. Klynens, *La Malaria*. Paris, J.-B. Baillière, in-8 de V-184 p. avec 4 pl. en phototypie et 50 fig. dans le texte, 1903. Cartonné, prix : 10 francs.

Instruits, par un long séjour au Congo belge, des ravages exercés par le paludisme dans les contrées tropicales et des admirables résultats obtenus par l'application des mesures prophylactiques préconisées par Ross, Grassi, Celli et leurs émules, les deux auteurs ont cru faire œuvre utile en résumant, sous forme simple et précise, l'état actuel de nos connaissances sur les fièvres intermittentes. Ils y ont pleinement réussi. Leur livre n'est pas seulement un guide pour le débutant, comme ils le qualifient modestement; c'est encore et surtout un ouvrage très utile pour le médecin, le colon, l'explorateur et tous ceux en général qui vivent dans les pays chauds et dans les régions tempérées où sévit la meurtrière endémie palustre.

Après un rapide aperçu de la classification des Protozoaires, les auteurs donnent une longue description des Coccidies (p. 9-44). Celles-ci, à la vérité, n'ont rien à voir avec le paludisme, mais leur étude n'est pas inutile, puisqu'elle permet de comprendre les diverses phases de l'évolution des Hématozoaires de Laveran. C'est alors que vient la description de ces derniers (p. 45-106) : leurs transformations dans le sang humain, puis chez le Moustique, sont tour à tour exposées avec méthode, après quoi les *Plasmodium vivax*, *præcox* et *malariae*, agents des trois types fébriles bien connus, sont caractérisés successivement. Il est donné aussi de bonnes indications pratiques relativement à la recherche des parasites dans le sang, à leur fixation et à leur coloration. Le chapitre suivant (p. 107-154) traite des Moustiques, de leurs métamorphoses et de leurs mœurs, ainsi que des procédés permettant de rechercher les parasites dans leurs organes. Un dernier chapitre (p. 155-182) est consacré à la prophylaxie du paludisme, tant générale qu'individuelle.

Comme on le voit, l'ouvrage de MM. Bertrand et Klynens est un résumé fidèle des découvertes qui ont, ces années dernières, si profondément modifié notre conception du paludisme et nous ont enfin permis de lutter efficacement contre cette terrible maladie. Les auteurs se sont parfaitement assimilés les travaux les plus récents et ont su les présenter d'une façon claire et démonstrative.

Teisi Matzuschita, *Bacteriologische Diagnostik. Zum Gebrauche in den bacteriologischen Laboratorien und zum Selbstunterrichte*. Jena, G. Fischer, in-8 de XVII-692 p. avec 1 pl. et 17 fig. dans le texte, 1902.

Il est impossible d'analyser un pareil ouvrage. Il consiste en une longue série de tableaux synoptiqnes énumérant les caractères différentiels de

1304 espèces de Bactéries. Celles-ci sont classées d'abord suivant qu'elles liquéfient ou non la gélatine, puis, dans chaque division, suivant qu'elles sont aérobies ou anaérobies; chacune de ces subdivisions se dédouble à son tour, suivant que les espèces qui y figurent sont capables ou non de produire des spores ; enfin, les formes rangées dans chaque catégorie sont encore subdivisées suivant qu'elles prennent ou non le Gram. On arrive de la sorte à une différenciation de plus en plus étroite, dans laquelle on peut encore établir des distinctions basées sur la présence ou l'absence d'une substance pigmentaire.

Tel est le plan de cet ouvrage. Chaque espèce s'y trouve caractérisée par un exposé sommaire de ses réactions essentielles, puis par une courte diagnose; la synonymie et une brève bibliographie s'y trouvent également indiquées.

En outre de cette partie synoptique, qui forme le fond de l'ouvrage et n'occupe pas moins de 565 pages, les Bactéries sont énumérées d'après leur habitat ordinaire (eau, air, poussière, Poissons, vinaigre, fromage, organes génitaux, etc.). Les différents types, Streptocoques, Sarcines, Vibrions, etc., sont enfin l'objet d'une diagnose comparative qui conduit facilement à leur détermination.

On comprend tout l'intérêt pratique d'un tel ouvrage, qui a sa place marquée dans tous les laboratoires de bactériologie.

A. Plehn, *Die Malaria der afrikanischen Negerbevölkerung, besonders mit Bezug auf die Immunitätsfrage.* Jena, G. Fischer, in-8 de 51 p. avec 1 pl., 1902. Prix : 2 mk. 50.

L'auteur de cet opuscule est bien connu par ses travaux antérieurs sur le paludisme et les autres maladies des pays chauds. Il étudie ici la question si controversée de l'immunité des nègres à l'égard du paludisme. Il démontre que presque tous les enfants de cette race ont déjà, dès les premiers temps de leur vie, des Plasmodies dans le sang, mais sans présenter aucune élévation de température ni aucun autre symptôme ; la rate peut être hypertrophiée, mais c'est loin d'être un phénomène constant. Il est donc évident que le jeune négrillon jouit d'une véritable immunité congénitale.

Le parasite se retrouve également chez environ la moitié des nègres adultes, sans que ceux-ci en soient en rien incommodés, à part l'hypertrophie de la rate qui s'observe jusque chez 62 pour 100 des individus. Les Hématozoaires manquent dans le sang périphérique, aussi bien que dans celui de la rate, dans les deux tiers des cas, chez les nègres atteints de fièvre incontestablement paludique ; on ne peut donc tirer aucun signe diagnostique de la présence ou de l'absence des parasites dans le sang, chez les indigènes de la côte occidentale d'Afrique.

Plehn est d'avis que les trois ou quatre formes typiques que revêt l'Hématozoaire du paludisme correspondent à de simples variétés d'une

même espèce, capables de se transformer l'une dans l'autre. Cette assertion nous semble contestable; cette réserve étant faite, nous devons reconnaître l'intérêt de ses observations et le soin minutieux avec lequel il les expose.

A. Krämer, *Die Samoa-Inseln. Entwurf einer Monographie mit besonderer Berücksichtigung Deutsch-Samoas. — Anhang zu Band II. Die wichtigsten Hautkrankheiten der Südsee (Tinea circinata und imbricata, Verruga und Frambœsie, Elephantiasis und Lepra).* Stuttgart, E. Nægele, in-4 de 26 p., avec 13 pl. en phototypie, 1902. Prix : 8 mk.

Le Dr Krämer, médecin d'état-major de la marine allemande, vient de publier une très intéressante description de l'archipel des Samoa. Dans un appendice consacré spécialement aux maladies de la peau, il étudie le tokelau ou teigne imbriquée, le frambœsia, l'éléphantiasis et la lèpre. Ces affections sont très répandues dans l'archipel ; l'auteur en donne une bonne description clinique, accompagnée de planches d'une excellente exécution. La plupart de celles-ci représentent des formes déjà bien connues, telles que l'éléphantiasis du scrotum ; à signaler en particulier un remarquable cas de teigne imbriquée chez un enfant et un cas non moins curieux d'éléphantiasis de la mamelle chez une vieille femme.

Le tokelau est causé par un mycélium dont Krämer indique les caractères, toutefois sans reconnaître ses relations avec les *Aspergillus*; des divers traitements employés contre cette dermatose, le plus efficace semble être le badigeonnage au pétrole.

La verruga et le frambœsia sont incontestablement deux maladies très voisines, mais pourtant distinctes ; la première est limitée comme on sait à l'Amérique du sud; la seconde, qui a une aire de distribution beaucoup plus vaste, s'observe fréquemment aux Samoa. L'étiologie en reste incertaine.

Cette intéressante monographie médicale nous apporte ainsi une bonne contribution à la pathologie des régions océaniennes. Il serait désirable que chaque pays publiât des monographies semblables pour ses diverses colonies.

NOTES ET INFORMATIONS

Piranhas et Candirus. — On n'a certainement pas oublié l'humoristique article que le Professeur Jobert a publié sur ces terribles Poissons du Brésil (1) : les premiers attaquent à belles dents les baigneurs, les seconds ont la fâcheuse réputation de pénétrer dans l'urèthre. Voici, à titre de documents, quelques passages extraits de l'un des livres de K. von den Steinen, qui a exploré en 1884 le centre du Brésil, des hauts plateaux du Mato Grosso à la mer, en descendant le cours du Schingú ou Xingú (2).

Le Piranha remonte le Xingú jusque près de sa source ; on le trouve au Mato Grosso dans les ruisseaux et on l'y craint tout autant que dans les régions côtières :

« In den Bächen werden bereits Piranhas gefangen (*Serrasalmo*), ein gewöhnlich 25-35 cm. grosser Raubfisch, der sich durch ein äusserst starkes Gebiss und eine unglaubliche Gefrässigkeit auszeichnet. Nur dicke, schmiedeeiserne Angeln widerstehen der Kraft seiner Zähne; unsere gusseisernen Angeln, welche mittels eines Stücks geflochtenen Messingdrahts an die Leine befestigt wurden, zerbrachen in grösster Anzahl. Um der Piranha willen fürchtet man sich sehr, zu baden oder einen Fluss zu durchschwimmen ; sie hält sich in ruhigem Wasser in Scharen auf, und da sich jedes Individuum eilfertigst herbeidrängt, ein Stückchen abzubeissen, sollen Menschen und grosse Thiere in wenigen Minuten zu Skeletten präparirt werden. Im Amfang mundete uns das zarte Fleisch ausgezeichnet. »

Le Candiru remonte également jusque dans les régions centrales ; von den Steinen l'a vu par 12°25 de latitude sud :

« Beim Baden werden wir vorsichtig. Es wurden Candirús gefunden, ein hier 2 cm. langes transparentes Fischchen mit gelber Iris, das gern in die ihm zugänglichen Körperhöhlen eindringt. Wenn dasselbe, wie häufig vorkommen soll, in die Urethra schlüpft, ist die Lage wegen der gleich Haken sich in die Schleimhaut einbohrenden Flossen sehr kritisch ; gelingt es nicht durch ein warmes Bad den Störenfried herauszuschaffen, bleibt nur die Operation übrig. Es soll der Sertanejo alsdann auch nicht besinnen, die Urethrotomie auszuführen und in vielen Fällen an diesem heroischen Verfahren zu Grunde gehen. »

On sait que les indigènes se mettent à l'abri des indiscrétions de ce fâcheux animal en se protégeant le gland. Voici de quelle manière procèdent les Indiens Yurunas :

« Yurunae peni imponunt « pileolum » (eine Hülse von der Form eines

(1) C. Jobert, Sur la prétendue pénétration de Poissons dans l'urèthre. *Archives de Parasitologie*, I, p. 493-502.

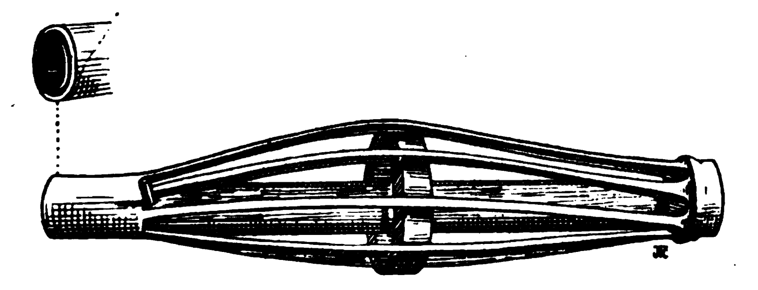
(2) K. von den Steinen, *Durch Central-Brasilien. Expedition zur Erforschung des Schingú im Jahre 1884*. Leipzig, in-4° de XII-372 p., cf. p. 139-140, 178-179 et 239 en note.

oben wagerecht, unten schräg abgeschnittenen Kegels) aridis palmae foliis factum, qui altitudinem et diametrum duarum inferiorum phalangum digiti minimi fere æquat. Quo pileolo directe e scroto urgente corpora cavernosa in scrotum reprimuntur, ita ut tumoris instar infletur. Penis autem externi plane nihil extra pileolum apparet. Atque cum urethra prorsus conclusa sit, insecta intrare non possunt. »

Prix Desportes. — Nous croyons devoir attirer l'attention sur le Prix Desportes, décerné annuellement par l'Académie de médecine. Ce prix, d'une valeur de 1300 fr., peut être divisé. Par suite d'une revision récente des termes de sa fondation, il sera désormais « décerné à l'auteur du meilleur travail de thérapeutique médicale pratique et *sur l'histoire naturelle pratique et thérapeutique* ». Les travaux manuscrits ou imprimés, signés ou anonymes, sont admis au concours.

Un piège à Puces. — M. Beauvais m'écrivait fin décembre dernier : « *Les Puces sont la plaie de ce pays.* Nous en avons eu *des nuées* cette année. Elles couvraient le sol *à des épaisseurs de un à deux millimètres*, en certains endroits ; cela devient dans ces proportions une véritable calamité contre laquelle rien ne peut réussir. »

Il est difficile de comprendre une multiplication de Puces, en apparence instantanée, dans tout un pays, sans l'intervention complice de certains animaux domestiques. Car l'Homme, si insouciant qu'il soit, oppose toujours une certaine résistance. qui limite leur reproduction. Les maisons des Chinois ne sont pas toujours très proprement tenues, quoique extérieurement d'aspect souvent coquet. Ils ne sont cependant pas plus sales



qu'une foule d'autres peuples où l'on ne signale jamais d'invasions de Puces. Et dans le Yun-nân ils ont recours à des procédés ingénieux pour débarrasser leurs personnes de ces hôtes gênants. En m'écrivant M. Beauvais m'a envoyé un *piège à Puces*, dont un dessin est ci-contre. On ne saurait appeler d'un autre nom ce petit instrument. Il consiste en un bambou de 26 centimètres de long, enduit d'une glu qui ne se sèche pas facilement. Ce bambou est inséré dans un bambou plus gros qui est ajouré et dont l'écorce est réduite à sept cordes. Celles-ci sont redressées et tendues au centre par des morceaux de bambou insérés entre elles et le bâtonnet gluant de l'intérieur. Elles servent ainsi de cage protectrice à ce

dernier. Très simplement ainsi construit cet instrument est très léger et on peut l'insérer partout. Les Chinois garnissent leur lit de ses exemplaires. En outre, ils en portent sur eux, placés dans le dos, dans les jambes de leur pantalon, dans leurs manches. Et son emploi est ainsi très efficace. Il est certain que toutes les Puces qui occupent une manche où il y a un piège pareil finissent par s'y prendre.

Ce n'est donc pas un jouet d'enfant, comme on serait tenté de le croire au premier abord. Si on le compare à nos pièges à Mouches, on reconnaîtra qu'il remplit plus complètement l'objet auquel il est destiné, puisqu'il débarrasse sûrement le corps, les vêtements, des parasites qui y sont contenus. Son usage est donc parfaitement recommandable. Et il est si facile de le renouveler, du moins au Yun-nân! Il ne coûte pas 10 sapèques, pas un sou de notre monnaie. — ZABOROWSKI, *Revue Universelle*, p. 362-363, 15 juillet 1902.

— Le piège à Puces envoyé par M. BEAUVAIS à M. ZABOROWSKI a été offert par ce dernier à la Société d'anthropologie, dans le Musée de laquelle il figure actuellement. Nous avons pu l'emprunter et constater que la description ci-dessus est partiellement inexacte, ou trop exacte si l'on veut. En effet, les sept cordes sont bien, comme l'écrit M. ZABOROWSKI, « redressées et tendues au centre par des morceaux de bambou insérés entre elles et le bâtonnet gluant à l'intérieur », mais il est de toute évidence que ces morceaux de bois résultent de la cassure en plusieurs pièces d'un anneau de bambou qui soulevait les cordes. C'est pourquoi, au lieu de reproduire la figure inexacte qui accompagne l'article ci-dessus, nous avons restauré l'instrument, en tenant compte du diamètre de l'anneau primitif. Notre figure représente donc d'une façon précise cet instrument très simple et vraiment ingénieux, dont la longueur totale est de 27 centimètres. — R. BL.

Congrès international d'hygiène et de démographie. — Le XIe Congrès international d'hygiène et de démographie siègera à Bruxelles, du 2 au 8 septembre 1903. La première division (Hygiène) comprendra les sections suivantes :

1° Bactériologie : microbiologie et parasitologie appliquées à l'hygiène ;

2° Hygiène alimentaire : sciences chimiques et vétérinaires appliquées à l'hygiène ;

3° Technologie sanitaire : sciences de l'ingénieur et de l'architecte appliquées à l'hygiène ; hygiène des collectivités.

4° Hygiène industrielle et professionnelle ;

5° Hygiène des transports en commun ;

6° Hygiène administrative. — Prophylaxie des maladies transmissibles. — Habitations ouvrières. — Hygiène infantile ;

7° Hygiène coloniale.

Voici l'énoncé des questions ressortissant à la Parasitologie qui seront mises en discussion :

Première section. — 1re *Question.* — Mode d'action et origine des substances actives des sérums préventifs et des sérums antitoxiques.

2e *Question.* — Quelles sont les meilleures méthodes pour mesurer l'activité des sérums.

3e *Question.* — De la valeur du sérum antidiphtérique au point de vue de la prophylaxie.

4e *Question.* — Unification des procédés d'analyse bactériologique des eaux.

5e *Question.* — La tuberculose humaine et celle des animaux domestiques sont-elles dues à la même espèce microbienne : le Bacille de Koch ? Cette question sera discutée par les deux premières sections réunies.

Deuxième section. — 1re *Question.* — Quelles sont les maladies des animaux de boucherie qui rendent leurs viandes impropres à l'alimentation ? Parmi ces viandes quelles sont celles qui peuvent être consommées après avoir été stérilisées? Quelles sont les viandes qui doivent être absolument détruites ?

2e *Question.* — Réglementation de la vente du lait destiné à l'alimentation. — Etude des causes qui font varier la composition chimique du lait ; mesures à prendre pour empêcher la vente de laits trop pauvres en principes utiles; organisation du contrôle ; méthodes analytiques à employer.

3e *Question.* — La stérilisation des conserves alimentaires. Conditions dans lesquelles doit s'effectuer cette opération. Vérification de la stérilité. Y a-t-il lieu de tolérer une certaine quantité d'antiseptique dans les conserves que l'on ne peut stériliser ? Dans l'affirmative, quels sont les antiseptiques qui pourront être employés ?

4e *Question.* — Conditions à observer et procédés techniques à adopter pour détruire les microbes pathogènes du lait, sans compromettre la qualité et la valeur des produits.

Troisième section. — 1re *Question.* — L'épuration bactérienne : *a)* des eaux d'égout ; *b)* des eaux résiduaires industrielles.

2e *Question.* — Les avantages et les inconvénients des égouts du système unitaire et du système séparatif.

3e *Question.* — Etablir, au point de vue des exigences de l'hygiène, les conditions que doivent remplir les eaux issues des terrains calcaires.

4e *Question.* — Hygiène des voies publiques. Les ordures ménagères, leur collecte, leur transport et leur traitement final : règles hygiéniques à suivre dans les maisons et dans les villes.

5e *Question.* — Progrès réalisés depuis vingt ans en matière de chauffage et de ventilation des habitations privées et collectives.

6e *Question.* — Règles générales d'hygiène à observer dans la distribution, l'aération permanente et la décoration intérieure des maisons d'habitation.

Quatrième section. — 1re *Question.* — Ankylostomasie. Faire connaître le développement topographique de l'ankylostomasie dans les pays houillers, le pourcentage des ouvriers qui en sont atteints et les rapports de cette

maladie avec les conditions hygiéniques des mines de houille où elle a été constatée (ventilation, température, humidité, etc.). Indiquer les mesures prophylactiques, pratiques et réalisables, à prendre pour enrayer le mal. Signaler celles qui ont été appliquées et les résultats qui en ont été obtenus.

SEPTIÈME SECTION. — 1re *Question*. — Alimentation des Européens et des travailleurs indigènes dans les pays chauds,

2e *Question*. — Prophylaxie de la malaria.

3e *Question*. — Prophylaxie de la maladie du sommeil.

4e *Question*. — Prophylaxie du béri-béri.

5e *Question*. — Prophylaxie de la variole dans les pays chauds. Vaccination et variolisation.

6. *Question*.— Organisation de l'enseignement de la médecine coloniale.

L'enseignement de la médecine coloniale en Italie. — Le 2 février 1903 s'est ouvert à l'Institut d'hygiène de l'Université de Naples un cours de perfectionnement pour les aspirants aux postes de médecin sanitaire maritime (médecin de port, médecin de bord) et de médecin de la marine royale. Ce cours durera deux mois et demi et portera sur les matières suivantes :

1° Prof. V. DE GIAXA. — Bactériologie, 3 heures par semaine.

2° Dr U. MILONE. — Bromatologie, 2 heures par semaine.

3° Dr Al. PASQUALE. — Hygiène navale et coloniale, 3 heures par semaine.

4° M. F. VETERE. — « Merceologia » ou connaissance des marchandises, 12 leçons.

5° Dr F. RHO. — Pathologie exotique, 3 heures par semaine.

6° Dr G. DRUETTI. — Propédeutique du médecin maritime, 10 leçons.

7° Dr T. SENISE. — Séméiotique et diagnostic médical, 2 heures par semaine.

Les leçons théoriques auront lieu le matin ; des exercices pratiques auront lieu l'après-midi.

A propos de ce cours de perfectionnement, le Dr F. RHO, médecin en chef de la marine, nous adresse les renseignements qui suivent :

« L'Italie n'a pas de colonies importantes, mais notre émigration atteint un chiffre considérable surtout pour l'Amérique. Nos ouvriers s'embarquent volontiers pour la République Argentine, le Brésil : ils partent en hiver et reviennent en été. Les émigrants qui voyagent dans ces conditions et reviennent au bout de peu de temps dans la métropole constituent presque la moitié du chiffre total de l'émigration. Ce chiffre a été l'an dernier d'environ 600.000 individus.

» Nous devions donc surtout nous préoccuper de la défense de notre pays contre les maladies infectieuses tropicales et de la protection sanitaire des émigrants, ainsi que de la désinfection des navires qui les transportent. C'est là le but de notre Ecole. La Chambre des députés vient de voter une loi sur l'émigration, qui est appliquée depuis le mois de juillet. Chaque navire, italien ou étranger, qui transporte les émigrants, venant surtout de Naples, de Gênes et de Palerme, possède à bord, en

qualité de commissaire du gouvernement, un médecin de la marine de l'Etat. Si le nombre des émigrants dépasse 500, il doit être assisté d'un médecin-adjoint civil. Ces médecins, de même que ceux qui sont attachés aux capitaineries de port, doivent avoir des connaissances sur l'hygiène navale, la pathologie exotique, ainsi que sur les lois, règlements et conventions internationales pour la prophylaxie des maladies infectieuses. Les médecins embarqués et surtout les médecins de port peuvent être chargés de la désinfection des marchandises. Ils doivent donc être à même de prendre des mesures telles que l'intérêt du commerce se concilie avec la protection de la santé publique. En Italie, toute marchandise avariée est soumise à l'examen d'une commission composée d'un officier du port, d'un chimiste et d'un médecin de port. Celui-ci doit donc posséder des connaissances précises sur les marchandises.

» Les exercices cliniques ont lieu dans les hôpitaux civils et militaires. Les travaux de bactériologie, d'hématologie, etc., se font à l'Institut d'hygiène, dont les laboratoires sont les plus vastes et les mieux outillés de toutes les Universités italiennes. Il y aura néanmoins des démonstrations pratiques dans les laboratoires de bactériologie et de chimie clinique des hôpitaux. Les démonstrations d'hygiène se font dans le port, sur les navires ou à la station de désinfection. Trente médecins ont été admis à suivre la première série de leçons. »

Libéralités américaines. — Pour faire suite aux donations extraordinaires dont bénéficient régulièrement les Universités américaines (*Archives*, IV, 467).

Le milliardaire ROCKEFELLER ayant perdu un petit-fils de diarrhée estivale, aurait fait don au professeur H. WELCH, de Baltimore, d'une somme de 200.000 dollars (1.000.000 de francs) pour étudier la pathogénie de la susdite diarrhée ?

Prix de médecine tropicale. — Le *Journal of tropical medicine* ayant mis au concours différentes questions relatives aux maladies des pays chauds, notre collaborateur et ami, le Professeur Bruno GALLI-VALERIO, a été proclamé lauréat du Prix BELILIOS pour son mémoire intitulé : *The spread of plague from Rat to Rat, and from Rat to Man by the Rat Fleas.*

Nous sommes heureux de féliciter notre savant collègue, dont les lecteurs des *Archives* ont eu plus d'une fois l'occasion d'apprécier les importantes recherches.

OUVRAGES REÇUS

Tous les ouvrages reçus sont annoncés.

Généralités

W. Szczawinska, Sérums cytotoxiques. *Archives de parasitologie*, VI, p. 321-358, 1902.

Van Campenhout et Dryepont, *Société d'études coloniales. Rapport sur les travaux du laboratoire médical de Léopoldville en 1899-1900*, Bruxelles, in-8° de 164 p., 1901.

Vuillemin, *L'association pour la vie*. Nancy, in-8° de 24 p., 1902.

Protozoaires

L.-F. Blanchard, Grégarine cœlomique chez un Coléoptère. *C. R. de l'Académie des sc.*, 15 décembre 1902.

A. Laveran et F. Mesnil, Recherches sur le traitement et la prévention du Nagana. *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 785-817, 1902.

A Laveran et F. Mesnil, Des Trypanosomes des Poissons. *Archiv für Protistenkunde*, I, p. 475-498, 1902.

L. Léger, Sur quelques Cercomonadines nouvelles ou peu connues parasites de l'intestin des Insectes. Note préliminaire. *Archiv für Protistenkunde*, II, p. 180-189, 1903.

L. Léger et O. Duboscq, Les Grégarines et l'épithélium instestinal chez les Trachéates. *Archives de parasitologie*, VI, p. 377-473, pl. II-VI, 1902.

J. Lignières, Contribución al estudio de la trypanosomosis de los Equideos sud-americanos conocida bajo el nombre de Mal de Cadera (*Trypanosoma Elmassiani*). *Boletin de agricultura y ganaderia*, II, n° 40, p. 843-945. 4 lám., 1902.

M. Lühe, Ueber Geltung und Bedeutung der Gattungsnamen *Eimeria* und *Coccidium*. *Centralbatt für Bakteriol.*, *Originale*, XXXI, p. 771-773, 1902.

M. Lühe, Neuere Lehrbücher uber Protozoen. *Archiv für Protistenkunde*, I, p. 462-474. 1902.

G. Moussu et G. Marotel La coccidiose du Mouton et son parasite. *Archives de parasitologie*, VI, p. 80-98, 1902.

Th. Smith, The production of sarcosporidiosis in the Mouse by feeding infected muscular tissue. *Journal of experimental medicine*, VI, n° 1, p. 1-21, pl. I-IV, november 29, 1901.

Th. Smith, On a *Coccidium* (*Klossiella muris*, gen. et spec. nov.) parasitic in the renal epithelium of the Mouse. *Journal of experimental medicine*, VI n° 3, p. 303-316, pl. XXI-XXIII, 17 march 1902.

Helminthologie en général

M Lühe, Ueber die Fixierung der Helminthen an der Darmwandung ihrer Wirte und die dadurch verursachten pathologisch-anatomischen Veränderungen des Wirtsdarmes. *Verhandlungen des V. internationalen Zoologen-Congresses zu Berlin*, in-8° de 8 p., 1902.

G. Schneider, Ichthyologische Beiträge. III. Ueber die in den Fischen des finnischen Meerbusens vorkommenden Endoparasiten. *Acta Societatis pro fauna et flora fennica*, XXII, n° 2, in-8° de 87 p., Helsingfors 1902.

Cestodes

J.-E.-V. Boas, *Triplotænia mirabilis. Zoologische Jahrbücher*, XVII, p. 329-334, 1902.

F. Dévé, De l'action de la bile sur les germes hydatiques. *C. R. de la Soc. de biologie*, p. 75-76, 1903.

F. Dévé, De l'action parasiticide du sublimé et du formol sur les germes hydatiques. *C. R. de la Soc. de biologie*, p. 77-78, 1903.

C. von Janicki, Beziehungen zwischen Chromatin und Nucleolen während der Furchung des Eies von *Gyrodactylus elegans* von Nordm. *Zoologischer Anzeiger*, XXVI, p. 241-243, 1903.

N. Kholodkovsky, Contributions à la connaissance des Ténias des Ruminants. *Archives de parasitologie*, VI, p. 145-148, 1 pl., 1902.

M. Lühe, Revision meines Bothriocephalidensystemes. *Centralblatt für Bakteriol., Originale*, XXXI, p. 318-331, 1902.

M. Lühe, Bemerkungen über die Cestoden aus *Centrolophus pompilius*. *Centralblatt für Bakteriol., Originale*, XXXI, p. 629-637, 1902.

C. Parona, Due casi rari di *Cœnurus serialis* Gerv. *Bollettino dei Musei di zool. e anat. comp. della r. Università di Genova*, in-8° de 6 p., n° 118, nov. 1902.

Posselt, Alveolarechinococcus der Leber. *Wiener klin. Wochenschrift*, n° 32, in-8° de 6 p., 1902.

Trématodes

H. von Buttel-Reepen, Zur Kenntniss der Gruppe des *Distomum clavatum* insbesondere des *Dist. ampullaceum* und des *Dist. Siemersi. Zoologische Jahrbücher*, XVII, p. 165-236, taf. 6-10, 1902.

J. Hollack, Zur Kenntniss der sexuellen Amphitypie bei Dicrocœliinen. *Centralblatt für Bakteriol., Originale*, XXII, p. 867-869, 1902.

Nématodes

P. Barbagallo, Nuovo contributo alla casuistica dell'ossiurasi cutanea. *Gazzetta degli ospedali e delle cliniche*, n° 5, in-8° de 7 p., 1903.

Insectes

Rabary, *La Chique à Madagascar*. Thèse de Montpellier, in-8° de 70 p., 1902.

J. Wagner, Aphanipterologische Studien. *Horae Societatis entomologicae rossicae*, XXXVI, p. 125-156, taf. II, 1902.

Moustiques, paludisme, fièvre jaune, etc.

Andrianjafy, *Le Ramanenjana à Madagascar. Choréomanie d'origine palustre*. Thèse de Montpellier, in-8° de 68 p., 1902.

A. Billet, Du paludisme à forme typhoïde. *Revue de médecine*, XXII, p. 1019-1077, 1902.

L. Dyé, Notes et observations sur les Culicides. *Archives de parasitologie*, VI, p. 359-376, 1902.

F. Fajardo, *Molestias tropicaes. Impaludismo. Epidemiologia*. Rio-de-Janeiro, in-8° de 15 p., 1902.

L.-A. Forest, *Les Moustiques et la fièvre jaune*. Thèse de Paris, in-8° de 109 p., 1903.

B. Galli-Valerio e J. Rochaz de Jongh, Studi e ricerche sui Culicidi dei generi « *Culex* e *Anopheles* ». *Atti della Società per gli studi della malaria*, IV, in-8° de 48 p., 1903.

B. Galli-Valerio e J. Rochaz de Jongh, Il focolaio malarico del lago del Piano. *Atti della Società per gli studi della malaria*, IV, in-8° de 10 p., 1903.

B. Grassi, *Documenti riguardanti la storia della scoperta del modo di trasmissione della malaria umana*. Milano, in-8° de 103 p., 1903.

K. M. Levander, Mittheilungen über *Anopheles claviger* Fabr. in Finland. *Acta societatis pro fauna et flora fennica*, XXI, n° 3, in-8° de 30 p., Helsingfors, 1902.

Ed. Sergent, *La lutte contre les Moustiques. Une campagne antipaludique en Algérie*. Thèse de Paris, in-8° de 80 p., 7 pl., 1903.

L. Taylor, Second progress report of the campaign against Mosquitoes in Sierra Leone. *Liverpool School of tropical medicine*, memoir V, part. 2, in-8° de 13 p., september 15, 1902.

H.-B. Ward, The meaning of recent discoveries concerning malarial organisms. *Studies from the zoological laboratory of the University of Nebraska*, n° 46, p. 101-121, october 25, 1901.

Bactériologie

W. Dubreuilh, *Le pian*. Bordeaux, in-8° de 23 p., 1902.

W. Dubreuilh, Pyodermite serpigineuse linéaire. *Annales de dermatologie et de syphiligraphie*, p. 785-791, 1902.

B. Galli-Valerio, Contribution a l'étude des caractères morphologiques et des cultures de *Bacterium pestis* et des rapports de ce Bacille avec *Bacterium pseudotuberculosis rodentium*. *Centralblatt für Bakteriologie, Originale*, XXXIII, p. 322-330, 2 pl , 1903.

Ed.-E. Escomel, Anatomie pathologique du verrucome de Carrion. *Annales de dermatologie et de syphiligraphie*, p. 961-982, 7 pl., nov. 1902.

A. Pitres, La lèpre en Gironde à notre époque. *Société de méd. et de chirurgie de Bordeaux*, 19 décembre 1902.

G. Rakotobe, *La lepre et les léproseries à Madagascar et à la Guyane* (*contagion, prophylaxie, traitement*). Thèse de Montpellier, in-8° de 59 p., 1902.

R. Rollinat, *Crâne du Loup enragé qui, le 17 juillet 1878, jeta la terreur dans les communes de Tendu et de Mosnay, canton d'Argenton, arrondissement de Châteauroux* (*Indre*), une page in-4°.

Th. Smith, The relation between bovine and human tuberculosis. *The medical News*, New-York, in-8° de 14 p., feb. 22, 1902.

L. Terre, *Essai sur la tuberculose des Vertébrés à sang froid. Etude de pathologie expérimentale et comparée*. Dijon, in-8° de 128 p., 1902.

Mycologie

A. Ferry, *L'amygdalite phlegmoneuse et son traitement par la Levure de biere*. Thèse de Paris, in-8° de 55 p., 1903.

L. Hallion et Carrion, *Le kéfir et la kéfirothérapie*. Paris, in-18° de 63 p., 1901.

Le Gérant, F. R. de Rudeval.

Lille. — Typ. & Lith. Le Bigot frères

INTORNO AL PROCESSO

DELLA SOSTITUZIONE FIBROSA

DEI TUBERCULOMI DEL CERVELLO

ED ALLA NATURA ED ESTENSIONE DELLE ALTERAZIONI

CHE NEGLI ELEMENTI NERVOSI DELLA CORTECCIA

DETERMINANO I TUMORI INTRACRANICI (1)

DEL

Professore D.-B. RONCALI

Aiuto della Clinica chirurgica e Professore di Ortopedia nella R. Università di Roma.

(TAVOLE I-II).

Il presente caso clinico che devo alla cortesia del Prof. Durante, è meritevole di studio per molteplici punti di vista. Da esso infatti si apprende :

1°. — Che nell'encefalo i tubercoli solitari qualche volta subiscono la sostituzione fibrosa, direi quasi tendono alla guarigione spontanea, con un processo analogo a quanto interviene nelle sierose, nelle ossa, nelle articolazioni, nell'intestino, ecc ;

2°. — Che nelle gravi ed universali alterazioni delle fibre tangenziali e radiali delle varie regioni della corteccia degli emisferi entrano in campo fattori di varia specie ;

3°. — Che un trauma sul cranio di individui in preda a infezione di altri organi, può risultare fatale non per sè stesso, ma inquantochè crea nel punto di azione un *locus minoris resistentiae* dove per la via del sangue vanno a localizzarsi quei germi preesistenti nel corpo dell' individuo colpito ;

4°. — Che finalmente i sintomi osservati, hanno seguito *pari passu* le lesioni di età diversa riscontrate nel cervello e nella midolla dell'infermo, tanto all'operazione, quanto alla necrospia ed all'esame istologico.

(1) Dall' Istituto di Clinica Chirurgica della R. Università di Roma diretto dal Prof. F. Durante.

Ciò premesso riferisco la storia clinica :

Graziani Enrico di anni 23, di Roma meccanico, entra in Clinica il 23 Aprile 1899. La madre, a dire dell'infermo, è impressionabilissima, nervosa e strana di carattere, ma robusta di costituzione; il padre invece è di carattere calmo e sanissimo. L'infermo ebbe tre fratelli e due sorelle, che morirono in tenera età par malattie che egli ignora.

Nulla di ereditario si riscontra in quanto a sifilide e a tubercolosi. Da bambino, all'età di un anno ha sofferto di accessi eclamptici; a 7 anni ebbe la polmonite. Ha cominciato a masturbasi a 8 anni continuando fino ai 14, e ciò faceva parecchie volte al giorno. A 12 anni ebbe le prime eiaculazioni. Dai 14 anni in poi ha abusato di donne. Da 17 anni ha abusato di vino, giungendo a bere fino a 4 litri al giorno. A 18 anni ebbe una pleurite, e a 19 anni un'ascesso in corrispondenza della regione anteriore del collo.

Negli ultimi tempi ha contratto una blenoraggia, nega però di avere mai avuto l'ulcera dura.

In quanto all'attuale malattia racconta che 4 anni fa mentre era allo stato di ebrezza, cadde battendo la regione occipitale. Circa due mesi dopo, una sera, verso le 5 pom., avendo molto bevuto il giorno precedente, senza avere avvertito disturbi di sorta nella notte e durante il giorno, si sentì ad un tratto stando in piedi, indebolirglisi la metà sinistra del corpo; contemporaneamente avvertì un senso di formicollìo, che iniziandosi dal piede sinistro si diffuse rapidamente in direzione ascendente fino al braccio dello stesso lato. Nell'istesso tempo, l'infermo dice di avere avuto una nebbia avanti agli occhi; la coscienza rimase perfettamente integra nè si notarono disturbi della parola. L'attacco durò quasi 5 minuti, cessando gradatamente. L'infermo dice di essersi sentito bene durante il resto della giornata, ed in seguito non notò nulla di nuovo fino alla primavera del 1896, epoca in cui ripresero gli attacchi. Nello stesso tempo che incominciarono a comparire questi attacchi, come dicemmo, due mesi circa dopo la caduta, l'infermo si avvide che la visita gli si era notevolmente indebolita e gli oggetti quando gli erano posti a destra, cioè quando dovevano essere ripercossi i loro raggi sopra i segmenti sinistri delle due retine non erano percepiti.

Dal 1896 gli attacchi, a mano a mano andarono sempre più aggravandosi ripetendosi quasi ogni mese. In questo frattempo gli

accessi si esplicavano coi seguenti caratteri: l'infermo aveva delle scosse cloniche che interessavano gli arti di sinistra, gli si torceva l'angolo labiale sinistro, e la vista gli s'indeboliva al punto da rimanere per qualche tempo abolita del tutto. Da circa un anno gli accessi si resero anche più gravi, sopratutto allorquando l'infermo nel giorno precedente si sarà ubriacato.

Dice, che attualmente durante l'attacco cade a terra, avverte un nodo alla gola che non lo fa più parlare, però conserva perfettamente la coscienza; nota inoltre che attualmente si sente il lato sinistro del corpo più debole, e l'occhio sinistro appannato. Racconta che gli attacchi terminano con una speciale parestesia : si sente come un fiume che della gota gli scende fino al piede ed agguiunge, che gli accessi epilettici intervengono spessissimo dopo lo smodato abuso di vino che avrà fatto il giorno o i giorni che lo precedono. Gli accessi in questi ultimi tempi, sono sempere seguiti da paresi negli arti di sinistra che dura qualche volta per 24 a 48 ore. L'infermo osserva che al presente gli accessi intervengono ogni tre o quattro settimane, e allorquando irrompono, in una medisama giornata possono ripetersi anche due o tre volte. La durata degli accessi, è di 4 o 5 minuti.

Esame obbiettivo. — Cranio stenocefalico con parecchie asimetrie. Nella porzione posteriore vi è una notevole asimetria data dall' appiattimento della bozza parietale sinistra in confronto dell' omonima di destra; inoltre nel punto di unione del frontale col parietale esiste a sinistra un secondo appiattimento che non si rileva a destra. La volta trovasi abbastanza sollevata in corrispondenza della sutura sagittale. La fronte è bassa e fuggevole, pochissimo o affatto evidenti le bozze frontali, e notevolmente sviluppate le arcate sopraorbitarie. Le palpebre conferiscono un' apertura normale agli occhi, però invitando l'infermo a chiudere gli occhi si osserva che la palpebra sinistra si contragga e si serri con minore forza della destra. I movimenti dei globi oculari sono normali, le pupille eguali fra loro e reagiscono bene alla luce ed all' accomodazione.

La funzionalità del faciale superiore è indebolita a sinistra e il faciale inferiore dello stesso lato è ipotonico, difatti nelle contrazioni, l'angolo labiale di sinistra si contrae più tardi trovandosi animato da leggiere scosse muscolari, e si stanca molto più presto

dell'angolo labiale del lato opposto. La plica naso-geniena di sinistra è meno appariscente di quella del lato opposto, ed invitando l'infermo a sorridere si nota come la bocca venga stirata a destra per leggiera paresi, del faciale di sinistra; invitando l'infermo a divaricare la bocca, troviamo normali i movimenti dell' arco palatino tanto di destra quanto di sinistra.

La lingua protrusa si mostra animata da lievi movimenti fascicolari e tende a deviare verso sinistra. Il capo nello stato di riposo, non ha alcuna tendenza a ruotare piuttosto a destra che a sinistra, e i suoi movimenti attivi e passivi sono possibili e completi. La palpazione leggiera in tutto l'ambito del cranio non reca alcuna molestia, e lo stesso possiamo dire di una forte palpazione. La pressione dei rami del trigemino non è dolorosa nè a destra nè a sinistra.

Colla percussione si ha un suono più alto in tutta la porzione sinistra del cranio, mentre nella destra e specialmente in corrispondenza del punto di unione del parietale con l'occipitale, il suono è più basso. In questo punto la percussione suscita vivo dolore.

I vari movimenti attivi di flessione, di estensione, di abduzione e di adduzione degli arti superiori ed inferiori sono normali e pronti nel compiersi. La forza muscolare però è leggermente diminuita a sinistra, specialmente nell'arto superiore dello stesso lato; infatti saggiando la forza muscolare col dinamometro a destra si ha 25, a sinistra 22.

Anche i movimenti passivi sono possibli negli arti cosi di destra come di sinistra. E' da notare in ultimo, come i piccoli movimenti della dita si compiano con alquanta incertezza e con parecchio ritardo nella mano sinistra.

Le masse muscolari tanto degli arti superiori quanto degli inferiori sono ben sviluppate però si rileva una leggiera ipotrofia a carico degli arti di sinistra. La circonferenza dell' arto superiore destro nel terzo medio del braccio misura 26^{cm}. La circonferenza dell' arto superiore sinistro nella stessa località 25^{cm}. La circonferenza dell' arto superiore destro nel terzo superiore dell' avambraccio misura 26^{cm}., quella dell' arto superiore sinistro nella stessa località 24^{cm}. La circonferenza dell' arto superiore destro nel terzo superiore della coscia misura 50^{cm}., quella dell' arto inferiore

sinistro nello stesso sito, 48^{cm}. La circonferenza dell' arto inferiore destro nel terzo medio della coscia, misura 47^{cm} 1/2, quella dell' arto inferiore sinistro, nella stessa località 44^{cm}. La circonferenza dell'arto inferiore destro nella regione del polpaccio misura 32^{cm} 1/2 quella dell'arto inferiore sinistro nella stessa regione misura 31^{cm} 1/2.

Nella deambulazione l'infermo segue la linea retta, però non infrequentemente striscia la punta del piede sinistro contro il suolo. Si osserva durante il cammino che l'arto sinistro è più debole del destro, perchè l'infermo sepesso compie delle oscillazioni col tronco verso sinistra, dovute ad un leggiero grado di astenia da parte dei muscoli di sinistra nel sorreggere il peso del sovrastante tronco. La debolezza dell' arto inferiore sinistro si rende anche evidnte per la quasi impossibilità dell' infermo di reggersi sopra questo arto, allorquando il destro è sollevato dal suolo. Nella deambulazione rileviamo anche, che allorquando questa viene compiuta ad occhi chiusi, l'infermo mostra una leggiera tendenza a deviare verso destra, di più l'incesso è accompagnato da oscillazioni, è incerto, e l'infermo procede a passi lenti e con gli arti fra loro divaricati allo scopo di allargare la base di sostegno. Ordinandogli di camminare all' indietro e ad occhi chiusi si osserva, che l'andatura diventa ancor più disordinata, e per mantenere l'equilibrio si aiuta con l'abduzione esagerata non solo degli arti inferiori, ma anche dei superiori, e non segue una linea retta, ma tende a portarsi da destra a sinistra e anche circolarmente. Invitando l'infermo a prendere la posizione di Romberg rileviamo come esso compia leggerissime oscillazioni col tronco.

Nel passaggio dal cammino alla stazione eretta, fatto in modo brusco, non di rado col tronco compie leggiere oscillazioni. L'andatura, studiata col metodo delle impronte ci rende edotti come esista una grande tendenza alla rotazione interna da parte di ambedue i piedi, e come non infrequentemente il piede sinistro tenda a portasi sopra la linea mediana, non solo, ma a portarsi su quella del destro mostrando cosi una palese tendenza all' incrocio dei passi. Questo modo di camminare però non è costante, e qualche volta l'infermo, pur mantenendo la tendenza alla rotazione interna dei piedi, fà passi come i normali, come si rileva dai vari tracciati presi. Nella corsa mantiene la linea retta, ma ruota sempre gli arti

all' interno, qualche volta gli incrocia e non di rado urta l'un malleolo con l'altro.

I riflessi tendinei sono molto indeboliti negli arti superiori, il riflesso bicipitale però è più evidente nell' arto superiore sinistro. Il riflesso rotuleo è molto esagerato a sinistra e quasi abolito a destra e l'achilleo è abolito a destra e quasi normale a sinistra. I riflessi addominali sono normali, i cremasterici sono straordinariamente vivaci a destra e aboliti o quasi a sinistra.

La sensibilità tattile e dolorifica negli arti superiori ed inferiori è ben conservata e la sensazione di caldo e di freddo è egualmente percepita nei due lati.

Qualche volta si osserva un leggiero ritardo nella percezione da parte dell' arto inferiore sinistro. Il senso di posizione è normale negli arti superiori e negli inferiori.

L'esame oftalmoscopico rileva la completa assenza di papilla da stasi, il perimetrico invece constata una cecità nel segmento retinico temporale dell' occhio destro, e nel nasale dell' occhio sinistro, cioè a dire la presenza di un' emianopsia bilaterale omonima destra. L'esame perimetrico fa rilevare inoltre come il visus a destra sia uguale ad 1 e a sinistra a 2/3.

Nell' odorato non si nota alcuna alterazione; in quanto al gusto, qualche volta si osserva che l'acido e il dolce non sono percepiti a sinistra e altre volte non lo sono nè a sinistra nè a destra; il salato e l'amaro invece si riconoscono ugualmente in ambedue le metà della lingua. L'udito è leggermente indebolito a sinistra, a destra il battito dell' orologio si sente alla distanza di quasi $1^{m}50$, mentre a sinistra lo stesso battito è percepito solo alla distanza di 80^{cm}. La trasmissione delle onde del diapason si compie bene da ambedue i lati. L'esame radioscopico del cranio riesce negativo. L'esame psichico dimostra come le facoltà intelleltive si mantengano integre e non appaiano per nulla indebolite. La memoria è pronta, tanto per i fatti recenti, quanto per i remoti. La critica si ritrova anche corretta specialmente se è messa in relazione col grado di coltura dell' infermo. Non si rileva lentezza e difficoltà nella percezione delle domande, ed alcun ritardo nelle risposte. In complesso l'infermo à abbastanza intelligente.

I fatti che da tutto quanto si è detto risultano più evidenti sono:

1°. — La completa assenza della papilla da stasi.

2°. — L'esistenza della emianopsia bilaterale omonima destra.

3°. — L'indebolimento della funzione uditiva a sinistra.

4°. — La leggera ipotrofia degli arti di sinistra accompagnata da abolizione dei riflessi nell' arto superiore sinistro e da esagerazione degli stessi nell' arto inferiore dello stesso lato.

5°. — L'esistenza di dolori di capo non localizzati, ma vaganti.

L'infermo ha costituzione scheletrica regolare, masse muscolari bene sviluppate, se si eccettui un leggero grado di ipotrofia a carico degli arti di sinistra; pannicolo adiposo scarso e colorito della cute e delle mucose visibili fisiologico. Cuore normale; raggrinzamento degli apici polmonali in ambedue i lati con ottusità a destra. Funzioni gastro-enteriche ed urinarie fisiologiche.

L'infermo è degente nella nostra Clinica da 33 giorni. Il giorno del suo ingresso, 25 Aprile, ha avuto tre attachi di epilessia della durata ognuno di 2 a 3 minuti. Ad uno di questi attachi fummo presenti e potemmo perciò constatare : che l'accesso si inizia con contrazioni tonico-cloniche degli arti di sinistra, al principio le contrazioni sono estese solo agli arti della metà sinistra del corpo, poi si propagano ai muscoli della metà corrispondente del collo e della faccia e si ha deviazione del copo, stiramento dell' angolo boccale e deviazione dei bulbi oculari a sinistra. Il suodore cuopore la cute della metà sinistra del corpo. Al diffondersi dell' accesso al collo ed al copo l'infermo perde la coscienza ed allora seguono scosse convulsiue diffuse a tutti gli arti, contrazioni dei muscoli del torace e del diaframma, e si ha così cianosi molto intensa e polso frequente, aritmico e pieno. Al cessare dell' accesso l'infermo rimane per pochi minuti in uno stato subcomatoso e la vista resta per qualche tempo ottenebrata. L'infermo non ha più avuto accessi come il descritto, però fino al 20 Maggio quasi tutti i giorni ebbe a lamentarsi di vertigini. Il 2 e il 3 Maggio ebbe forti vertigini seguite da contrazioni ai muscoli delle pareti addominali di sinistra, ma il fenomeno non ebbe seguito. Il 5, il 6 e il 7 Maggio ebbe anche forti cefalalgie, vertigini e accenni a contrazioni nei muscoli addominali di sinistra e all' arto superiore dello stesso lato, ma il tutto non ebbe seguito. Giova tener presente che in tutto questo tempo all' infermo è stata somministrata pochissima quantità di vino. Durante tale degenza si è notato ancora la sparizione della paresi del faciale superiore ed inferiore di sinistra,

dellaparesi degli arti di sinistra e della tendenza di strisciare la punta del piede sinistro contro il suolo. Da cinque giorni i fatti da noi rilevati nella deambulazione e che erano tutti scomparsi sono di nuovo riapparsi e nell' infermo di nuovo si osserva nella deambulazione l'evidente strisciamento del piede sinistro contro il suolo. Il 20 Maggio ebbe due nuovi attachi epilettici molto forti e con lo stesso carattere di quelli avuti il 23 di Aprile.

In seguito a questi attacchi è rimasto per 24 ore paretico della metà sinistra del corpo. Il 22 Maggio ebbe altri attacchi ma meno forti di quelli avuti due giorni prima. Questi attacchi epilettici si sono ripetuti anche il 24 Maggio e sono stati contraddistinti da contrazioni tonico-cloniche negli arti superiori ed inferiori di sinistra. Da due giorni finalmente la deambulazione è alquanto incerta ed ha di nuovo acquistato il carattere che si osserva nel primo tracciato. La forza muscolare del malato a sinistra è molto diminuita, la vista è alquanto ottenebrata e si lamenta di un dolore di capo esteso a tutta la metà destra che prendendo inizio dalla regione occipitale s'irradia in avanti rendendosi abbastanza acuto in corrispondenza del lobo frontale dello stesso lato.

Diagnosi. — Probabile tubercolo solitario nel terzo superiore della parietale ascendente destra diffuso alle circonvoluzioni parietali.

Operazione. — 25 Maggio 1899. Narcosi morfino-cloroformica. Si determina la posizione della scissura rolandica col metodo del D'Antona. Incisione a tutto spessore fino all'osso, la quale iniziandosi dall' estremo inferiore della linea che segna il solco di Rolando si porta in alto segeundone il tragitto; indi si curva dopo raggiunta quasi la sutura interparietale portaudosi in basso e posteriormente fino a raggiungere l'inion. Si limita così un vasto lembo a base inferiore e concavità superiore. Allora con lo scalpello del Mac Ewen e col maglio s'intacca il tavolato esterno in modo da lasciare delle squame ossee aderenti al pericranio del lembo che si deve sollevare e si forma così un lembo alla Durante che viene abbassato. L'incisione delle parti molli dà forte emorragia che si frena applicando pinze a T e ad L.

Allora colla sgorbia si scava seguendo il contorno dell'incisione cutanea, ma un poco al di quà di questa, un solco, sopra il tavolato osseo, il quale delimita la porzione di parete cranica da asportarsi e collo scalpello del Mac Ewen si completa il taglio fino al tavolato

interno e con delle leve si solleva il disco, il quale appena rimosso appare la dura specialmente in alto e, in direzione della scissura interemisferica, priva di pulsazioni. Si incide la dura seguendo il contorno della incisione ossea e sollevata si trova aderentissima nella dirizione della porzione superiore della circonvoluzione parietale ascendente ove si scuopre il neoplasma.

L'operatore allora con lo scapello del Mac Ewen allarga in alto l'incisione ossea, avendo cura però di non ledere il seno longitudinale maggiore, e col dito giunge a enucleare un tumore della dimensione di circa un uovo di colomba, il quale era impiantato non molto profondamente nella sostanza bianca e a cui la dura era aderentissima tanto che in questo punto fu necessità asportarla.

Il tumore occupa esattamente il terzo superiore della circonvoluzione parietale ascendente e si estende posteriormente interessando parzialmente una buona parte delle porzioni anteriori delle circonvoluzioni parietali. Si ha forte emorragia da una grossa vena corticale che viene frenata mediante allacciatura. Ciò fatto si pratica la toeletta del cavo e si cerca di suturare la dura che però non si riesce. Si mette nel cavo uno stuello di garza di cui un' estremità si lascia fuori nel punto più declive della ferita per servire da conduttore ai transudati, e dopo praticata la emostasi delle parti molli, si procede alla riunione per prima del lembo, adoperando a ciò la seta e dando punti staccati. In corrispondenza del punto di fuoriuscita dell'estremità dello stuello di garza non si mettono punti. Medicatura antisettica e fasciatura amidata. Il peso del neoplasma asportato è di 30 grammi.

Diaria. — 25 Maggio. — L'infermo è stato calmo tutta la giornata e verso le 6 della sera ha avuto un accenno ad un accesso epilettico consistente soltanto in lievi contrazioni dei muscoli della guancia sinistra. Ha vomitato quattro volte. Si è notata abbondante secrezione dalla ferita.

26 Maggio. — L'infermo ha passato la notte tranquillissimo. Alle 10 ant. ebbe un accesso tipico di epilessia bravais-jacksoniana che al solito si iniziò dall'arto inferiore sinistro diffondendosi poscia alla faccia. L'accesso rimase circoscrito a sinistra e senza perdita di coscienza. Dopo un quarto d'ora si ebbe un secondo, e cinque minuti dopo un terzo sempre col medesimo carattere. Supponendo che ciò potesse dipendere da transudati raccolti si porta l'infermo

in sala operatoria e tolte le bende si allontana lo stuello sotto una corrente di acqua tiepida. Allontanato lo stuello fuoriesce un po' di liquido siero-ematico. Lavaggio all'acqua tiepida e medicatura a piatto senza applicazione di un nuovo stuello di garza. Alle 6 p. m. ebbe un nuovo accesso epilettico il quale non rimase circoscritto a sinistra, ma si diffuse a destra. Temperatura, polso e respirazione normali. Nessun miglioramento dal punto di vista dell' emianopsia.

27 Maggio. — La giornata è stata tranquilla, lo stato dell'emianopsia è invariato. Si incominciano le iniezioni jodiche.

28 Maggio. — Anche oggi lo stato dell'infermo è uguale a quello del giorno precedente. Non si rileva alcun miglioramento nello stato della vista. C'è molta secrezione dalla ferita; si fanno perciò impacchi al sublimato.

29 Maggio. — Stato generale uguale a quello dei giorni passati. Continua la secrezione di liquido cefalo-rachidiano.

30 Maggio al 3 Giugno. — Stato dell'infermo eguale a quello dei giorni scorsi. Perdura l'indebolimento degli arti superiori ed inferiori di sinistra e l'emianopsia. La secrezione continua ad essere straordinariamente copiosa.

4 Giugno. — Stamattina vengono tolte le bende perchè l'infermo ha asserito di avere avuto tutta la notte forti dolori in corrispendenza del punto craniectomizzato. Scoperta la ferita non si riscontra nessum fatto che valga a spiegare il dolore. La soluzione di continuo è rimarginata per prima e si tologono perciò i punti. In corrispondenza del punto della cute non riunita, da dove fuoriusciva la estremità dello stuello vi è una piccola ernia cerebrale. Inoltre si nota come il cervello sia notevolmente teso e poco pulsante. Supponendo una raccolta profonda si praticano tre puntre esplorative che rimangono senza effetto. Si applica una fascitura leggermente compressiva.

5 Giugno. — Dall'infermo oggi sappiamo che l'indomani dell' operazione gli è incominciato uno scolo purulento dall'orecchio destro il quale è stato abbondantissimo la notte del 4. Aggiunge però che dopo la medicatura di ieri in tutta la giornata non ebbe più scolo.

6 a 8 Giugno. — Nessun miglioramento nella vista e nella forza degli arti superiori ed inferiori di sinistra. L'infermo cammina

trascinando la gamba e strisciando la punta del piede. Oggi 8 Giugno gli è stata praticata una terza medicatura e si è constatato come l'ernia cerebrale non tenda per nulla a diminuire; si osserva sempre una ipertensione endocranica e pochissima pulsazione da parte del cervello.

9 a 20 Giugno. — In questi giorni lo stato dell'infermo anzichè migliorare si può dire che è andato peggiorando. Le medicature sono state praticate ogni tre giorni, si è osservato che l'ernia cerebrale è andata continuamente aumentando e solo da pochi giorni si può considerare stazionaria. La forma e la dimensione attuale è di un piccolo mandarino. Qua e là nell'ernia si vedono punti necrotici. Coll'aumentare dell'ernia è coinciso l'aumento della paresi negli arti superiori ed inferiori di sinistra, tanto che l'infermo a grandi stenti è nel caso di camminare. I fatti a carico della vista appaiono immutati. La temperatura, che dal giorno 12 al 18 Giugno aveva subito delle oscillazioni fra i 38° G e i 39° G, è ora ritornata al normale. In tutto questo tempo si sono avuti due attachi epilettici non troppo forti con lo stesso carattere che avevano prima dell'operazione. L'infermo appare molto turbato e sovente ha dei momenti di grave scoraggiamento; la sua nutrizione generale appare molto decaduta quantunque egli mangi con avidità cibi nutrientissimi e in grande copia. Le funzioni urinarie e rettali sono normali.

20 a 30 Giugno. — In questi giorni i fenomeni più degni di nota sono stati i motori. L'infermo non è nel caso di camminare perchè l'arto inferiore sinistro è completamente paralizzato e l'inferiore destro da qualche giorno è notevolmente indebolito. Gli stessi fenomeni si sono rilevati a carico dell'arto superiore sinistro e destro. L'ernia cerebrale si è alquanto aumentata e in buona parte appare necrotizzata; infatti durante le medicature ci riesce di allontanare grossi frammenti mortificati che si staccano facilmente. L'ernia non è pulsante e con la sua formazione e necrosi sono coincise le paralisi del lato sinistro. Quello che sorprendono sono le paralisi a destra, a meno che non si ammetta la continuazione e la diffusione del processo nel lato opposto. Le condizioni visive sono peggiorate e l'infermo dall'occhio sinistro quasi non vede affatto. In questi giorni si sono avuti tre gravi attachi epilettici generalizzati con perdita di coscienza i quali hanno lasciato abbattutissimo l in-

fermo. Un altro fenomeno degno di considerazione è l'ottenebra mento intellettuale che da qualche giorno è molto evidente. L'infermo stenta a comprendere le parole per un evidente ritardo nella percezione. Tale ottenebramento è accompagnato da uno stato apatico.

1 a 15 Luglio. — Ciò che caratterizza questo periodo della malattia sono i seguenti fatti : riduzione parziale dell'ernia cerebrale per necrosi di gran parte di essa ; gravità maggiore e frequenza degli accessi epilettici ; paralisi completa degli arti di sinistra e paresi di quelli di destra ; ottenebramento intellettuale molto spiccato ; riapparizione dello scolo dall'orecchio di destra ; dolori gravi in corrispondenza della regione occipitale sinistra irradiantisi a tutto il cranio ma più particolarmente in direzione della linea mediana in corrispondenza della sutura sagittale ; difficoltà nell'articolazione della parola ; abolizione della vista dall'occhio sinistro ; aumento della temperatura, la quale è salita oltre i 39° C., mantenendosi così per quattro giorni nonostante i purganti.

15 a 31 Luglio. — Tutto quello che si era rilevato nella prima quindicina di Luglio nello stato generale dell'infermo, si è notato anche nella seconda, con questa diversità però, che i fenomeni in questi ultimi giorni si sono aggravati in modo veramente eccezionale al punto che ora l'infermo è in preda ad una vera paralisi progressiva. Gli accessi si sono avuti spesso e anche di notte ed alcuni sono stati straordinariamente gravi per durata ed intensità. L'infermo non è più nel caso di camminare, ne anche sorretto. esso giace sdraiato su una poltrona, col lato sinistro completamente paralitico ed in uno stato quasi di completa astenia intellettuale. La temperatura si mantiene sui 38° C. e da qualche giorno sono apparsi i vomiti ed i fenomeni d'incontinenza vescicale e rattale.

1 a 12 Agosto. — Lo stato generale procede sempre a rapidi passi verso la catastrafe. Da cinque giorni l'infermo è completamente parapelgico, ed ha anche paralisi completa del retto e della vescica e con ciò e coinciso un elevamento di temperatura che ora si mantiene stazionario fra i 39°.2 e i 39°.5 C. Gli accessi epilettici si sono ripetuti quattro volte in questi 12 giorni e sono stati eccezionalmente gravi ; in uno si vide l'infermo diventare quasi nero dalla cianosi e rimanere per qualche istante senza respiro, tanto che si procedette rapidamente alla respirazione artificiale. La parola è difficilmente intelligibile e l'infermo stenta a capire le domande più simplici

come le proposizioni : « Come stai? » « Come ti senti? ». Ogni tanto è agitato da forti dolori i quali qualche volta sono seguiti da vomiti. La denutrizione è massima e non lo si sostiene che a base di cognac e di qualche uovo, le uniche cose che non rifiuta. E' quasi completamente cieco e dall'orecchio sinistro non sente affatto.

13 à 18 Agosto. – In questi giorni la temperatura è stata sempre a 39° C. e da due giorni, cioè i due giorni che precedettro la morte è salita a 40° C. E' molto probabile che tale elevamento di temperatura sia dipendente da una diffusione del processo tubercolare alle meningi, poichè i sintomi di questi ultimi giorni autorizzano a pensare ad una meningite. Da cinque giorni l'infermo ha continua diarrea. La paralisi degli arti è completa e l'infermo non è nel caso di muoversi se non è aiutato. Ha ulcere di decubito al sacro e ai trocanteri. E' completamente cieco ed appare addirittura ischeletrito. Gli accessi in questi ultimi giorni sono stati gravissimi e si sono ripetuti fino a 12 nello stesso giorno. L'intelligenza appare estinta del tutto ed esiste grande difficoltà nella deglutizione, tanto che bisogna nutrirlo col tubo elastico. Le sensibilità tattile, termica e dolorifica sono quasi estinte specialmente negli arti di sinistra. La morte accaduta oggi 18, alle 3 pom. è stata preceduta dal coma. L'infermo entrò in coma circa 24 ore prima di estinguersi.

Necroscopia. — 19 Agosto. — Si pratica la necroscopia trascorse 20 ore dalla morte. Incisione circolare del cuoio capelluto e sezione della volta cranica circolarmente. La dura madre in corrispondenza della perdita di sostenza ossea determinata dalla craniectomia, si trova mancante per la estensione di una moneta da dieci centesimi ed aderente saldamente ai bordi ossei. Attraverso il punto osseo ove la dura è macante, traspare la porzione di cervello che era stata erniata di colorito giallo-grigiastro il cui aspetto e la cui consistenza richiamano l'idea di un tessuto degenerato. La dura madre che tappezza l'emisfero destro è congesta, opacata e notevolmente ispessita in corrispondenza del terzo medio di detto emisfero.

Incisa circolarmente la dura madre ed estratto l'encefalo, si nota che la superficie interna della dura manca della normale lucentezza che si rileva nella meninge sana ; e in corrispondenza della fossa cerebrale media destra e di ambedue le fosse cerebrali poste-

riori, si vedono numerosi noduli di aspetto grigiastro, qualcuno anche della dimensione di una lenticchia, molto numerosi in corrispondenza della gran falce del cervello, particolarmente nella sua faccia che è in contatto colla superficie interna dell'emisfero destro. Tutta l'estensione di quella porzione durale della gran falce del cervello che è in contatto col *lobulus parancentralis*, con una porzione del *lobulus quadrilaterus* e colla porzione di *gyrus frontalis internus* in contatto col *lobulus paracentralis* è occupata da una massa neoformata, rilevata, benoccoluta, di consistenza duro elastica, biancogrigiastra, che ha l'apparenza di un voluminoso conglomerato di tubercoli, di aspetto giovane, che si estende in alto fino al *sinus falciformis maior*, ripiegandosi anche sulla porzione di dura madre che si estende sopra la faccia supero-esterna dell' emisfero destro, comprimendo così una parte del terzo superiore del *gyrus frontalis ascendens* e del *gyrus parietalis ascendens*. Per questo ammasso di tubercoli il *sinus falciformis maior* è ristretto in corrispondenza del *lobulus paracentralis*. La dura madre è saldamente aderente alla pia madre che riveste i lobi parietali e occipitali di destra specialmente nel punto ove notammo la scontinuità durale. I margini infatti di questa scontinuità, sono così aderenti a quella porzione di cervello che era stata erniata che per staccarli si sono dovute impiegare le forbici.

La pia madre ha vasi molto sviluppati specialmente nella metà destra ; è ispessita ed opacata particolarmente in quelle parti che tappezzano tutto lo spazio mediano esteso dal *chiasma nervorum opticorum* al *pons Varoli* fino a tutti i nervi che si originano dalla base del cranio. Inoltre la pia che riveste la base del cervello è qua occupata da nodicini quanto la testa di uno spillo che hanno l'aspetto di tubercoli miliari. La base del cervello, è occupata da essudato gelatiniforme molto aderente, ciò che indica una propria leptomeningitide cronica della base.

L'esame della massa encefalica mostra numerose e vaste lesioni tutte però a carico dell'emisfero destro ove di osserva fra altro, una vasta perdita di sostenza la quale occupa quasi completamente il *lobus parietalis* nella cui periferia esiste tessuto cerebrale rammollito e profondamente alterato. La perdita di sostanza suddetta colpisce quasi l'intiero *gyrus parietalis ascendes* quasi fino alla *scissura Silvi* inferiormente, e superiormente risparmiando il suo

margine anteriore che trovasi in contatto col *sulcus Rolandi* il quale non appare per nulla interessato; inoltre questa perdita di sostenza interessa l'intiero *lobulus parietalis superior* sino alla *scissura parieto-occipitalis externa* che risparmia; il *lobulus parietalis inferior* colla *scissura interparietalis*; il *gyrus angularis* e quasi tutto il *gyrus marginalis* di cui però risparmia il segmento più prossimo alla *scissura Sylvi*. Il fondo di questa perdita di sostanza è costituito da tessuto molle di colorito dove giallastro e dove bruno.

Nel *lobus temporo-sphaenoidalis* troviamo il *gyrus temporalis superior* ed il *gyrus temporalis medius* di colorito giallastro che al tatto appaiono rammolliti per tutta la loro estensione.

Nel *lobus occipitalis* vi è una durezza fibrosa in corrispondenza del *gyrus occipitalis superior* e del *gyrus occipitalis medius*; la quale si percepisce notevolissima dalla faccia interna del *lobus occipitalis* dove occupa il *cuneus* e la porzione superiore del *lobulus lingualis*. Troviamo inoltre che le circonvoluzioni da cui è costituito il *cuneus* ed il *lobulus lingualis* sono deformate e la *scissura parieto-occipitalis interna* e la *scissura calcarina* appiante.

Staccati gli emisferi dal tronco dell'encefalo e separati a mezzo di un taglio sagittale praticato nella linea mediana del *corpus collosum*, si scuoprono così le faccie interne dei due emisferi. Sulla faccia interna dell'emisfero di sinistra non troviamo nessun alterazione mentre lungo il margine inferiare del *gyrus corporis collosi* dell'emisfero destro, in prossimità del *sinus corporis collosi* si osservano numerosi noduli tubercolari, qualcuna della dimensione di un cece, isolati. Questi noduli abbondano specialmente in prossimità del *gyrus corporis collosi* giungendo fino al *sulcus intralimbicus*.

Praticato un taglio orizzontale attraverso gli emisferi del cervello osserviamo che il *centrum semiovale* dell'emisfero sinistro è normale, mentre quello corrispondente alla perdita di sostanza descritta nell'emisfero destro, è di una mollezza estrema ed ha un colorito giallastro che richiama il tessuto nervoso degenerato. Inoltre nella sostenza bianca del lobo occipitale destro, con questo taglio, si è diviso per metà un tumore della dimensione di un piccolo uovo di gallina, il quale occupava l'intiera sostanza bianca e aveva quasi ridotto al nulla la sostenza grigia della superficie interna, cioè quella, da cui rissultavano costituiti il *cuneus* e la parte superiore del *lobulus lingualis*. La consistenza del neoplasma è fibrosa, esso è

stridente al taglio e la sua superficie di sezione mostra nettamente separate due parti, una centrale di colorito bianco-giallastro splendente, l'altra periferica molto poco spessa, che fa l'impressione come di uno strato corticale di circa un terzo di centimetro di spessore che avvolge la parte mucleare anzidetta di colorito grigio.

Le sezioni frontali praticate sui *pedunculi*, sul *pons Varoli*, sulla *medulla oblongata* e sul *cerebellvm* mostrano un lieve edema nella metà destra delle anzidette parti, astrazion fatta del *cerebellum*, non che assoluta mancanza di noduli tubercolari.

I fatti riscontrati nella *medulla spinalis* sono macroscopicamente poco importanti. Anche qui la dura madre appare ispessita, però sulla sua superficie interna non si riscontra traccia di nodulí tubercolari. Essa in qualche punto appare aderente alla pia madre, la quale è notevolmente ispessita ed opacata e in prossimità del rigonfiamento cervicale, ricoperta da essudato gelatinoso molto spesso. Quest'essudato però si trova anche nella porzione dorsale inferiore e nella lombare della midolla ma non molto spesso. La midolla spinale appare edemizzata e i tagli orizzontali nelle varie regioni confermano l'edema. Macroscopicamente non si osserva nulla a carico dei fasci, nelle varie regioni della midolla e nemmeno si rinviene traccia di noduli tubercolari. L'apertura del torace scopore caseificazione delle ghiandole peribronchiali ed infiltrazione tubercolare degli apici di ambedue i polmoni con caverna a sinistra, mentre quella dell'addome rivela normali gli organi contenuti in questa cavità.

La diagnosi necroscopica quindi la possiamo cosl formulare : *Tubercolosi del parenchima pomonale e delle ghiandole peribronchiali; tubercolo solitario voluminoso nella sostanza bianca del lobo occipitale destro; rammollimento della corteccia della superficie interna del lobo occipitale destro, di quasi tutto il lobo parietale destro e di parte del lobo temporale dello stesso lato; grosso conglomerato tubercolare nella faccia destra della gran falce del cervello comprimente ambedue i lobuli paracentrali ma più specialmente il destro e tumori tubercolari multipli in quasi tutto il giro del corpo calloso; edema della parte destra del tronco dell'encefalo e di quasi tutta la midolla spinale; opacamento ed ispessimento della pia madre e dell'aracnoide per leptomeningitide e ispessi-*

mento della dura madre per consecutiva pachimeningitide croniche tubercolari.



Esame istologico. — L'encefalo, la midolla spinale, la dura madre col conglomerato tubercolare ed il tubercolo solitario riscontrato alla necroscopia vennero induriti nel liquido di Müller. Anche per il tubercolo solitario estirpato alla cranioresezione si adoperò lo stesso processo di indurimento. Terminato l'indurimento, si presero pezzi dai vari lobi dei due emisferi per un esame comparativo dello stato delle fibre e delle cellule corticali, nonchè pezzi della midola spinale dalle sue varie regioni per lo studio delle degenerazioni dei fasci. Per l'esame istologico dei tumori furono utilizzati il tubercolo solitario del lobo occipitale, quello del lobo parietale estripato dal Prof. Durante nella cranio-resezione, e l'ammasso di tubercoli che esisteva alla faccia destra della gran falce del cervello.



Esame istologico dei due tumori e del conglomerato tubercolare. — La descrizione istologica di questi tumori è altamente istruttiva come quella che in base ad essa giungeremo a conoscere che i tubercoli nel cervello si comportano talvolta nel medesimo modo che i tubercoli nel peritoneo, nella ossa, nelle articolaziodi ecc., mostrando cioè tendenza alla guarigione spontanea per sostituzione fibrosa.

Le colorazioni usate per lo studio istologico dei tumori in parola sono state le seguenti : la colorazione di Weigert per la ricerca dei Bacilli della tubercolosi; quella di Van Gieson e di Ramon y Cajal per lo studio del connetivo e il motodo di Weigert per la differenziazione delle fibre elastiche. Inoltre per le colorazioni in toto, ho usatato il litio-carminio e l'emtossilina iodica di Sanfelice. Qualche volta le sezioni colorate col litio-carminio o coll'ematossilina iodica vennero trattate coll'eosina e coll'orange.

Col metodo di Weigert per lo studio dei bacilli della tubercolosi furono colorate numerose sezioni, prese tutte dall'ammasso tubercolare aderente alla faccia destra della gran falce del cervello, in omaggio al fatto che questo tumore era il più giovane fra tutti non che da noduli giovanissimi aderenti ad altre parti della dura madre ma per quante ricercher si facessero, non fu possibile rintracciare

alcun microrganismo, nè fra gli elementi della zona epiteliode e nemmeno nel citoplasma delle cellule giganti.

Osservando a piccolissimo ingandimento sezioni ampie del tubercolo solitario riscontrato alla necroscopia nel lobo occipitale destro, colorate col metodo di Van Gieson oppure con quello di Ramon y Cajal, vediamo alla periferia del tumore, numerosi tubercoli di aspetto giovanissimo, intramezzati da altri di aspetto meno giovane e nel centro delle aree molto estese, nelle quali in alcune, si riscontrano tutte le fasi del disfacimento del tubercolo per necrosi da coagulazione ed in altre, le varie fasi della sostituzione del tubercolo da parte del connettivo, dalla disgregazione a mezzo dei leucociti, fino alla fibrificazione completa. Come diremo più innanzi, il tessuto fibroso si avanza e cinge anche quelle aree, dove noi abbiamo riconosciuto la distruzione avvenire per necrosi da coagulazione, la quale contigenza, ci autorizza a pensare che in questo caso la fibrificazione del tubercolo ha preceduto la necrosi caseosa dello stesso, la quale avvenne in seguito allo strozzamento dei vasi sanguigni per via del connettivo neoformato. Osservando a forte ingrandimento la zona periferica del tubercolo solitario in parola, riconosciamo come la struttura istologica dei tubercoli esistenti sia per la maggior parte tipica. Essi appaiono o aggregati o isolati; la maggior parte con trè, quattro o più tubercolini fra loro raggruppati e limitati appena da qualche traccia di connettivo fibrillare, laddove i tubercoli isolati sono più rari. Tanto i tubercoli aggregati, quanto gli isolati, risultano in generale costituiti dalle tre zone caratterische, cioè a dire della zona delle cellule giganti, da quella delle cellule epiteliodi e dalla zona delle cellule linfoidi. Le cellule giganti in generale sono uniche, però esistono tubercoli con due cellule giganti ed anche con trè ; mentre all'incontro si vedono tubercoli in cui la cellula gigante è mancante affatto; in questo caso il tubercolo è unicamente costituito dalla zona epiteliode e dalla granulomatosa. I tubercoli provvisti di una o più cellule giganti, sono anche molto diversi in quanto all'aspetto che in essi si trova abbiano assunto le zone epiteliode e granulomatosa. Attorno infatti alle cellule giganti uniche o multiple, si possono trovare, ora larghe zone di elementi epiteliodi circondate da zone non troppo ampie di elementi linfoidi, oppure scarse zone epiteliodi cinte da zone granulomatose molto larghe. Finalmente non sono infrequenti

quei tubercoli i quali attorno alla cellula od alle cellule giganti, mostrano unicamente la sona epiteliode. Quanto si è detto in proposito dei tubercoli giovanissimi ossia dei più periferici, vale ancora pei tibercoli meno giovani, i quali si differenziano dai primi, per la presenza di leucociti, nel protoplasma delle cellule giganti e fra mezzo agli elementi epiteliodi e per essere cinti da connettivo fibrillare il quale, non di rado caccia la sue fibrille fra mezzo agli elementi della zona epiteliode, fatto che benissimo può vedersi colla colorazione rossa o verde del connettivo.

I vasi sanguigni sono ampi e numerosi specialmente nelle porzioni periferiche del tumore e quasi tutti circondati da un copioso infiltramento leucocitario; nelle zone centrali però, sono pochissimo numerosi e in quei punti dove la fibrificazione del tubercolo è stata preceduta dal disfacimento per necrosi da coagulazione i vasi sanguigni mancano additura.

L'aspetto delle cellule giganti à straordinariamente vario: varietà dipendente tanto dalla forma del corpo cellulare quanto della disposione dei nuclei. Il corpo cellulare infatti in quanto alle forma appare: ora rotondo, ora triangolare, ora irregolarmente poligonale, in alcune è voluminoso, in altre invece è piccolissimo, tanto che della cellula non si scorge altro che un ammasso di nuclei fra loro stipati, limitato appena da una strisciolina anulare di protoplasma, che rappresenta il corpo cellulare. La varietà del corpo cellulare è data anche dalla nettezza o meno dei suoi contorni; in alcune il contorno è nettissimo, in altre appare finamente o grossolanamente frastagliato, in altre finalmente il cortono risulta di numerosissimi prolungamenti di variabile lunghezza e forma, poichè alcuni richiamano l'idea dei pseudopodi delle amebe ed altri quella delle vere spine. Non meno variabile della forma e della dimensione del corpo cellulare, appare in questi elementi giganti il numero e la disposizione dei nuclei. Tali nuclei in alcune cellule sono pochissimo numerosi e nel protoplasma si vedono dispersi qua e là senza alcun ordine; in altre invece, e si tratta del maggior numero, i nuclei sono innumerevoli e sono disposti: o annularmente a poca distanza dal contorno del corpo cellulare; o a siriscie lungo il diametro minore della cellula; o ad anello con una striscia in mezzo che lo divide in due parti uguali; o ad ammassi simetrici od asimetrici localizzati nel centro della cellula,

o nei suoi poli opposti, od in uno solo dei poli; o ad orologio a polvre; o a mezza luna; o a martello; o a mora; o a zampa d'oca; o filnalmente sono equabilmente distribuiti nel protoplasma cellulare, conferando in questi casi alla cellula gigante tubercolare l'aspetto della cellula gigante dei sarcomi delle ossa. Questo è quanto si riscontra nelle regioni più periferiche del tubercolo solitario in esame.

Rivolgendo ora la nostra attenzione a quelle porzioni del tuberculoma in cui abbiamo riconosciuto la presenza di tubercoli che abbiamo chiamato di aspetto meno giovane, ed a quelle regioni centrali del tumore, ove abbiamo osservato i processi involutivi cui andavano incontro i tubercoli; noi siamo in grado di renderci pienamente conto del modo come accade nel cervello la fibrificazione del tubercolo.

Proseguendo lo studio collo stesso ingrandimento, e fissando quei punti ove abbiamo riconosciuto la presenza di tubercoli di aspetto meno giovane, tre fatti notevolissimi colpiscono la nostra attenzione: l'*immigrazione leucocitaria*; il *disgregamento dei tubercoli per azione dei leucociti* e la *trasformazione dei leucociti in cellule di connettivo.*

Il primo stadio, ossia l'*immigrazione leucocitaria* di questo fenomeno, che come vedremo, si compie poi colla sostituzione del tessuto connettivo all'elemento specifico, il tubercolo, lo si riscontra là ove abbondano i vasi sanguigni. Attorno alle pareti dei vasi si osserva un'enorme infiltrazione leucocitaria, che riscontriamo ancora attorno a moltissimi tubercoli siano essi isolati od aggregati. I leucociti cingendo il tubercolo da ogni lato, non rimangono a lungo attorno alla zona granulomatosa, ma presto si vedono insinuarsi fra gli elementi della zona epiteliode che disgregrano a loro volta donde penetrano nel protoplasma delle cellule giganti per nutrisi a spese di esso e così distruggerle completamente. Ciò è molto facile a vedersi poichè i leucociti sono facilmente differenziabili dagli elementi epiteliodi a causa del loro nucleo multiforme ed intensamente colorato, laddove quello delle cellule epiteliodi è ovoidale, debolmente imbevuto delle sostanze coloranti e appare vescicoloso. Questo carattere differenziale vale ancora per riconoscere i leucociti nell'interno del protoplasma delle cellule giganti i cui nuclei sono vescicolosi, ovali e pochissimo colorati.

Penetrati i leucociti fra gli elementi della zona epiteliode e nel

protoplasma delle cellule giganti, iniziano il secondo stadio del fenomeno che è una vera azione fogocitaria, ossia il *disgregamento del tubercolo*, il quale si rende evidentissimo specialmente nella maniera come essi distruggono le cellule giganti. Gli elementi epiteliodi attaccati dai leucociti si disgregano e si frammentano, di questi non rimane altro che detrito risultante dal disfacimento del protoplasma e dalla frammentazione dei nuclei. La distruzione della cellula gigante accade in due modi; o *per disgregamento*, o *per assorbimento* del protoplasma e dei nuclei da parte delle cellule mesodermali o fogociti. Infatti una volta i leucociti penetrati nella cellula gigante tubercolare la distruggono con una di queste maniere. Se interviene il disgregamento, allora si osserva nel sito della cellula gigante un enorme quantità di leucociti che contorniano frammenti di protoplasma e di nucleo di varia grandezza, resti evidenti della cellula gigante disgregata. In certi casi questa disgregazione o frammentazione è più evidente, perchè la si sorprende nel periodo quando ancora i frammenti della cellula gigante non si sono allontanati di molto gli uni dagli altri e così la cellula gigante disgregata o frammentata conserva ancora la sua forma primitiva. In queste contingenze il protoplasma frammentato o disgregato, contrariamente al protoplasma delle cellule giganti normali si trova più intensamente colorato coi reattivi nucleari, mentre i nuclei e i frammenti dei nuclei all'opposto si trovano colorati pallidamente, contingenza questa che fa uno stranissimo contrasto colla pallidezza e nettezza del corpo protoplasmatico dei leucociti e coll'intensità della colorazione del nuclo degli stessi.

Il processo di assorbimento del carioplasma e del citoplasma delle cellule giganti accade ben diversamente dal processo disgregativo già descritto. Tale processo è il modo più comune con cui i fogociti distruggono le cellule giganti ed avviene identicamente in tutte quelle forme patologiche nelle quali le cellule giganti esistono. Io l'ho studiato nettamente nelle cellule giganti della midolla delle ossa dei conigli morti in seguito alle infezioni secondarie a fratture esposte sperimentali (1) e nelle cellule giganti degli epiteliomi e dei sarcomi, ma principalmente di questi ultimi (2) e posso dire: che la maniera come interviene l'assorbimento delle cellule giganti nei processi ricordati è perfettamente identica al modo come le cellule mesodermali distruggono la cellula gigante tubercolare.

Infatti nelle sezioni di questo tuberculoma cerebrale, la cellula gigante si vede contenere nel suo corpo uno, due, tre, sei, dieci o più fogociti; delle volte fino a non rimanerne visibile che l'ammasso dei nuclei. Le cellule mesodermali invadenti, si vedono circondate da un alone chiaro, ed i loro nuclei hanno la forma a C., a otto in cifra, a ciambella, a clava, a rene, a mora, a stella, etc., forme tutte che indicano mobilita e quindi vitalità nel nucleo, poichè si osserva che questi nuclei quantunque irregolari nella forma, reagiscono ciononpertanto alle sostanze coloranti nel modo istesso dei nuclei dei leucociti che stanno all'interno dei vasi sanguigni, e inoltre lasciano scorgere nettissima a fortissimo ingrandimento nel loro interno la tessitura nucleare, fatti questi che non potrebbero sussistere se i nuclei fossero in via di degenerazione ipercromatolitica od ipocromatolitica od in carioressi. Ma il fatto più culminante che secondo me indica la vitalità dei leucociti e che dimostra nettamente che essi stanno nell'interno della cellula gigante per distruggere e non per farsi distruggere, è il sorprendere i loro nuclei talvolta nelle varie fasi della cariocinesi. In alcune sezioni si trovano gruppi di dieci, quindici, venti, trenta o più leucociti raccolti attorno a masse colorate, che non sono altro che i nuclei informi della cellula gigante, il cui corpo cellulare è stato già digerito, ed ora sono per essere digeriti i nuclei. L'alone chiaro attorno al corpo cellulare del fagocita penetrato nel citoplasma della cellula gigante, le forme irregolari e la cariocinesi del nucleo degli stessi, testimoniano, che queste cellule, non sono corpi inerti imprigionati per essere divorati dalle cellule giganti, ma sono invece corpi vitali in piena attività, che si sono insinuati nel protoplasma della cellula gigante per distruggerlo. Infatti l'alone chiaro che cinge il loro corpo rappresenta l'area di dissoluzione del protoplasma della cellula gigante tubercolare provocata dalla presenza del leucocito. E' possibile che il leucocito una volta penetrato nel citoplasma della cellula gigante lo distrugga secernendo qualche sostanza che abbia potere dissolvente, analoga a quella che serve come sostiene il Metchnikoff (3) alla digestione dei microrganismi, allorquando questi sono rimasti imprigionati nel corpo dei leucociti. Comunque siano le cose, la distruzione dei nidi tubercolari esistenti nel tuberculoma in esame, ha luogo per mezzo delle cellule mesodermali ossia dei leucociti, e si compie

per vero e proprio fagocitismo, e tale distruzione nel processo della fibrificazione dei tubercoli si può estimare il secondo stadio del fenomeno.

Ed eccoci al terzo stadio del processo, ossia alla fibrificazione dei tubercoli che interviene per la *trasformazione dei leucociti in cellule connettivali.* Proseguendo l'osservazione delle sezioni del tuberculoma del lobo occipitale a un ingrandimento più forte, si rilevano nuovi e importatantissimi fatti, in rapporto all' ulteriore officio dei leucociti. La disgregazione della zona epiteliode e la disgregazione e digestione del protoplasma e dei nuclei delle cellule giganti è più progredita, troviamo che dei leucociti che hanno ciò operato, una parte continua il lavorio del fagocitismo fino a liberare completamente il campo dagli ultimi residui del tubercolo distrutto, ed un a parte subisce notevoli metamorfosi nel nucleo e nel corpo cellulare, le quali sono l'inizio della trasformazione del leucocito in cellula di connettivo. *E' la dimostrazione più evidente della possibilità che i leucociti si organizzino in connettivo.* Vediamo infatti, che allato ai leucociti che proseguono nel loro lavorio di disgregamento se ne trovano di quelli, il cui nucleo non è più polimorfo ed il cui corpo cellulare non è più rotondeggiante ma invece nucleo e corpo cellulare si sono allungati ed hanno assunto aspetto fusato. Vicino a queste forme se ne trovano altre col nucleo e col corpo cellulare più allungato, disposte in tutti i sensi ed in maniera da insinuarsi l'uno nell'altro colla estremità allungata del loro corpo protoplasmatico. Qualche volta, ciò che è veramente raro, framezzo a queste cellule cosi allungate, se ne scorgono di quelle che hanno la forma stellata ed altre, le cui estremità allungate, anzichè da una sono terminate da due punte. Che queste nuove forme siano di provenienza leucocitaria viene dedotto : da che nel punto ove esse si trovano, non esistono altri elementi all'infuori dei lucociti e di quelli del tubercolo disgregato, e dalla tonalità della colorazione assunta dai loro nuclei, la quale in tutto e per tutto appare analoga a quella dei comuni leucociti. Seguendo questi elementi nelle loro fasi ulteriori, troviamo delle aree, e ciò benissimo può studiarsi nelle sezioni colorate col metodo di Van Gieson o con quello di Ramon y Cajal, in cui in mezzo agli ultimi resti del tubercolo, si trovano dei fasci di connettivo fibrillare ricchissimo di nuclei, diretti in

ogni senso, e fra loro intrecciantisi, che occupano lo spazio precedentemente occupato dal tubercolo disgregato, e più profondamente verso il centro del tumore tubercolare, altre aree, nelle quali gli elementi connettivali, si fanno più densi, si giustapongono, perdono a grado a grado i loro nuclei e assumono la forma fascicolata, e finalmente scuopriamo altre aree, nelle quali si scorgono altri fasci di tessuto fibroso, privi assolutamente di nuclei, e sforniti addirittura di vasi sanguigni. Queste aree sono la fase ultima, cui è andata incontro la metamorfosi connettivale dei leucociti e rappresentano lo stadio finale della fibrificazione del tubercolo.

Il processo descritto, astrazion fatta, di particolarità d'importanza molto secondaria, è identico a quanto interviene nella tubercolosi peritonale sperimentale consecutivamente alla laparotomia, come ebbero ad osservare Kinschensky (4), Stchegoleff (5) e Nannotti e Baciocchi (6), e nella peritonite tubercolare dell'uomo in seguito all'apertura del ventre, come notarono Bumm (7) e Burci (8). Inoltre questo stesso modo di fibrificarsi dei tubercoli fu anche osservato da Margarucci (9) nella tubercolosi intestinale sperimentale e nella tubercolosi instestinale umana; da Biagi (10) nella carie sacca della spalla e da Barbacci (11) nella tubercolosi cerebrale sperimentale. Dove io non sono d'accordo con Burci è quando egli parla della metamorfosi delle cellule epiteliodi in cellule connettivali, perchè in questo caso bisognerebbe ammettere che il tubercolo vien distrutto dagli stessi suoi componenti, ciò che francamente è difficile a comprendersi.

La sostituzione fibrosa dei tubercoli nel tuberculoma del lobo occipitale destro, di cui ci stiamo occupando, non è preceduta sempre dalla distruzione fagocitaria degli elementi specifici; in certi punti troviamo invece che il connettivo derivante dalla organizzazione dei leucociti, cinge da ogni parte i tubercoli isolati o aggragati e provocando lo strozzamento dei vasi determina la loro necrosi per coagulazione. Questo processo si osserva benissimo in alcune delle aree centrali del tuberculoma in esame. I leucociti in questi punti, anziche infiltrarsi fra mezzo alle cellule epiteliodi ed insinuarsi nel protoplasma della cellula gigante per compiere la funzione disgregativa e forse anche digestiva che precede, come vedemmo, la sostituzione dei tubercoli dal tessuto connettivo, cingono da ogni parte il tubercolo isolato o i tubercoli aggregati ed

iniziano il lavorio dell'incapsulamento. Si osserva allora, che a mano a mano che i leucociti procedono verso la loro metamorfosi finale, la fibra connettivale, a grado a grado, gli elementi specifici del tubercolo, subiscono tutte le diverse trasformazioni distruttive, la cui ultima fase è la loro metamorfosi in detrito amorfo risultante dal disfacimento del protoplasma e del nucleoplasma per necrosi da coagulazione Allorquando del tubercolo primitivo non si trova altro che detrito amorfo, l'incapsulamento per connettivo neoformato è completo ed in questi casi, osservando gli stadi più avanzati del processo, ci troviamo di fronte a spazi vuoti, cinti perfettamente da connettivo fibroso, poverissimo o completamente sfornito di nuclei. Questi spazi cavi rappresentano il sito precedentemente occupato dai tubercoli isolati od aggregati strozzati e poscia disfatti dal connettivo incapsulante. Quest'identico processo troviamo descritto dal Biagi nell'interessante lavoro precedentemente citato sopra la carie secca della spalla.

Quanto abbiamo esposto, vale ancora per il tuberculoma del lobo parietale destro estirpato in seguito alla cranio resezione dal Prof. Durante, non che per il conglomerato tubercolare che aveva la sua sede nella faccia destra della gran falce del cervello. Quello che c'è da notare nello studio istologico delle sezioni di questi due tubercoli solitari è, che ambidue sono più giovani di quello riscontrato alla necroscopia nel lobo occipitale destro, perchè in ambedue il tessuto connettivo è meno abbondante di quanto lo si è riscontrato nel tumore occipitale già descritto. Lo studio istologico ci rende edotti eziandio, che fra il tuberculoma del lobo parietale e quello della superficie destra della grande falce del cervello esiste ancora una differenza di età, stantechè mentre nel primo il processo di sostituzione fibrosa è molto avanzato e assai notevole, nel secondo tale processo è pochissimo progredito e nelle sezioni, la prevalenza è di tubercoli giovani, contrariamente a quanto abbiamo osservato nel tubercolo solitario del lobo occipitale ed in quello del lobo parietale di destra.

La colorazione delle sezioni col metodo di Wiegert finalmente, praticata per lo studio delle fibre elastiche, ci fa riconoscere l'estrema scarsezza di tali fibre in tutti i tre tubercoli solitari descritti; infatti ove queste fibre si rintracciano con una certa facilità, è in corrispondenza dell'elastica vasale, perchè in mezzo

ai fasci connettivali la presenza di tali fibre raremente si riscontra.

Da quanto abbiamo esposto emerge dunque; che, i tubercoli esistenti nei tre tubercoli solitari descritti, hanno subito la sostituzione da parte del tessuto fibroso in due modi: o li loro posto fu occupato da tessuto connettivo neoformato, previo disgregamento dei tubercoli per azione leucocitaria (*fibricazione del tubercolo*) o essi furono imprigionati da uno spesso strato di connettivo neoformato, previa necrosi da coagulazione dei tubercoli per strozzamento dei vasi sanguigni (*incapsulamento del tubercolo*). In ambudue le contingenze, come si vede, si tratta *dell'esplicazione più completa del fagocitismo, con una lotta incessante e continua dell' organismo ospite contro l'aggressione dell'organismo parassitario e del suo prodotto il tubercolo*; lotta però che nel cervello, stante la particolare tessitura istologica dell'organo e la sua altissima importanza fisiologica, non termina forse mai colla vittoria dell'organismo ospite come spessissimo vediamo intervenire nei casi di tubercolosi del peritoneo, delle ossa e delle articolazioni. E la ragione è facile a comprendersi; dappoichè mentre nel peritoneo, nelle ossa e nelle articolazioni, la sostituzione fibrosa del tubercolo segna la guarigione del processo e quindi del malato; nel cervello, questa istessa sostituzione, anche giungendo alla totale estinzione dei tubercoli, ciò che deve essere veramente eccezionale, non avrà mai per risultato la guarigione funzionale dell'individuo, stantechè il tessuto fibroso sostituendosi al tubercolare nella cavità cranica produrrà gli stessi effeti funzionali disastrosi, che avanti la sostituzione produceva il tessuto tubercolare. Se quindi dal punto di vista della guarigione i fatti da me rilevati non offrono nessun valore, dal punto di vista biologico però hanno eccezionale importanza, come quelli che dimostrano nettamente, come l'organismo contro i parassiti ed i loro prodotti, reagisca costantemente nel medesimo modo, cioè a dire mettendo in campo tutte le sue potenzialità fagocitarie.

A questo punto si potrebbe obbiettare; è l'icapsulamento del tubercolo da estimarsi un processo fagocitario? Secondo l'opinione di molti patologi moderni, si. Allorquando l'organismo non può più difendersi coi soli elementi mesodermali, perchè di fronte non trova Schizomiceti contro i quali bastano i soli leucociti, ma parassiti di ordine più elevato o neformazioni maligne, in tal caso si difende con l'esagerata produzione di connettivó che circoscrive ed impri-

giona parassiti e neformazioni. Ed alla dimostrazione di tale asserto, valga il modo con cui l'organismo dell'uomo e degli animali superiori lotta contro i tumori maligni, e più particolarmente contro i parassiti appartenenti ai vari Sotto-Regni degli Invertebrati, e più specialmente della Classe dei Vermi, che vanno a localizzarsi nei suoi organi interni.

Riportandoci alle moformazioni maligne, troviamo che quello che si è veduto intervenire nella sotituzione fibrosa del tubercolo, con più o meno di diversità, lo si vede accadere nel sarcoma e nell'epiletioma, e nel primo più specialmente che nel secondo. Fui in grado di constatere infatti, che il connettivo, particolarmenie in determinati sarcomi, cingendo da ogni parte unitamente ai leucociti le cellule sarcomatose, cariche di parassiti, finisce per strozzarle e per distruggerle insieme ai parassiti contenuti ed in questo modo, si ha rallentato l'accrescimento del neoplasma e ritardata considerevomente la sua trapiantazione. Se invece lo stroma esiste appena od è poco abbondante (sarcoma a cellule embrionali), allora si ha che i parassiti unitamente alle cellule che li contengono, non sono disturbati affatto ; i primi si moltiplicano ed irritando le seconde si riproducono anche queste, e si ha così l'accrescimento del neoplasma e la sua diffusione negli organi lontani per l'emigrazione degli elementi specifici con in seno i parassiti (**12**). Del resto tutto ciò non è nuovo, dappoichè i clinici da gran tempo avevano notato che gli epiteliomi ed i sarcomi ricchissimi di connettivo e poverissimi di vasi erano relativamente benigni ed avevano un decorso straordinariamente lento, contrariamente a quanto si avvera nei sarcomi e negli epiteliomi così detti encefaloidi nei quali lo stroma è appena accennato o vi è scarsissimo e il reticolo vasale copiosissimo. Con Ruffer (**13**) possiamo dunque stimare lo stroma connettivale nei neoplasmi, come la reazione fagocitaria dell' organismo contro la invasione del parassitismo canceroso.

Più evidente però che contro i neoplasmi maligni, appare l'intervento del tessuto connettivo nella difesa dell'organismo dei Vertebrati superiori ed inferiori dal parassitismo animale. Tanto nell'Uomo, quanto negli altri Vertebrati si osserva; che molti *Acanthocephali* e *Cestodi* che s'insinuano nei loro organi per menarvi vita parassitaria, vengono tutti incistati. La cisti connettivale, la

così detta cisti avventizia, che nel fegato dell'Uomo circoscrive da ogni parte la cisti della *Tænia echinococcus*, si può dubitare che possa avere altro significato all'infuori di quello della reazione dell'organismo mercè il connettivo contro il parassita ? Ora le cisti parassitarie che si riscontrano negli organi di altri Vertebrati, sono tutte limitate da uno o più strati di connettivo, il quale non può avere un significato diverso da quello che ha il connettivo della cisti avventizia della *Tænia echinoccucus* nell'Uomo. Senza troppo dilungarmi sull'argomento dirò ; che tanto le cisti determinate nei vari organi della *Thalassochelys caretta* dalle uova del *Mesogonimus constrictus* descritti da Diamare (**14**) quanto le cisti di un Nematode allo stato larvale trovate nel rene di un Cane da Ebstein e Nicolaier (**15**) ; e quelle di *Spiroptera minuta*, di *Strongylus rufescens*, di *Filaria vesperuginis* descritte da Mingazzini (**16**) rispettivamente nello stomaco del *Vespertilio*, nel polmone della Pecora e nel peritoneo dei *Plecotus auritus* ; si trovano tutte nettamente delimitate dagli organi nei quali si contengono, per via di spessi strati di connettivo fibroso derivati dalla organizzazione dei leucociti dell'organismo ospìte.

Intorno al significato di questo connettivo non sono tutti d'accordo ; alcuni opinano che esso rappresenti una formazione favoriente lo sviluppo del parassita un mezzo cioè di protezione che l'ospite darebbe al parssita perchè si sviluppi; altri credono che tale connettivo debbasi estimare come una produzione dell' organismo ospite destinata all' uccisione del parassita. Davaine (**17**), Dewitz (**18**), Mingazzini (**19**) e Faussek (**20**) propendono per la prima ipotesi, mentre Metshnikoff (**21**), Soudakewitch (**22**) e possiamo anche dire, molti dei patologi moderni propendono per la seconda.

Senza tener conto affatto dell'affirmazione di Dewitz, il quale paragona il parassita incapsulato al feto dei mammiferi, e di quella di Faussek, il quale omologa le membrane involgenti il feto di un mammifero alla capsula connettivale che avvolge il parassita ; perchè non salterà mai in mente ad alcuno di trovare termini di confronto fra un feto che compie la sua evoluzione nell'utero di una donna e la *Tænia echinococcus* incistata che la stessa donna può avere nel proprio fegato o in una parte qualsiasi del corpo, dirò ; che Mingazzini e Davaine per dimostrare il non

antagonismo fra ospite e parasita ricorrono alla necessità che hanno alcuni parassiti di soggiornare in uno o più ospiti avanti di compiere il loro ciclo vitale.

« Colla sua teoria del fagocitismo, scrive il Mingazzini, Metchnikoff suppone una condizione che di fatto non esiste, quella cioè che il parassita e l'ospite debbano rappresentare due forze opposte, contrastantisi l'una verso l'altra. Il fatto iuvece dimostra che il parassita e l'ospite non si trovano in tal posizione. Un parassita, dal momento in cui per le necessità della sua esistenza è stato condotto a vivere a spese di un altro organismo e che normalmente in esso passa tutta o parte della sua vita, e che anzi, senza questa condizione non può compiere il suo ciclo vitale, non rappresenta più una forza contraria a quella dell'ospite, ma in certo modo si trova in armonia coll'esistenza di questo. Vi ha un reciproco adattamento dell'ospite e del parassita perchè la vita dell'uno e e quella dell'altro si compia nel modo più facile per entrambi. La lotta fra due organismi vi può essere solo allorquando l'uno cerca di divenire parassita dell'altro e vi sarà lotta finchè entrambi non si siano modificati l'uno per ospitare, l'altro per essere ospitato. » (**23**).

La contingenza che certi organismi per compiere il loro ciclo vitale hanno necessità di menare vita parassitaria in uno o più ospiti è un fatto da lungo tempo acquisito alla Biologia; ma da ciò non si può in alcun modo dedurre, come fa il Mingazzini « che i parssiti negli organismi degli ospiti, piuttosto che venir combattuti dagli elementi connettivali o anche epiteliali dell'ospite, vengono invece da questi favoriti e protetti, acciò lo sviluppo dei parssiti possa essere compiuto nelle migliori condizioni, e spesso l'organismo espite si adatta in tal modo alla presenza del parassita, da fornirgli materiali nutritizi appositi, organi protettivi speciali, tutte le condizioni insomma colle quali la vita del parssita sia in ogni maniera assicurata » (**24**).

Per poter concludere in questa maniera, bisognerebbe che venisse dimostrato: in primo luogo, che come il parassita ha necessità del corpo dell'ospite per compiere il suo ciclo biologico, così l'ospite ha necessità del soggiorno del parassita per vivere fisiologicamente; in secondo luogo, che l'ospite dal soggiorno del parassita nel proprio organismo, trae dei vantaggi per la fisiologica evoluzione della

sua vita come fa il parassita dal suo soggiorno nel corpo dell'ospite. Ma tutto ciò è ben lungi dall'essere provato e i fatti dimostrano perfettamente il contrario.

Infatti è noto, che la presenza di un parassita, a qualsiasi specie appartenga, negli organi di un Uomo, di un Cane, di un Coniglio, di un Pollo, ecc. lungi dal giovare in qualsiasi modo, all'incontro arreca danno, poichè tale contingenza *implica costantemente stato di malattia*, e non è certamente la malattia quella cui ha duopo un organismo per vivere e progredire. Non sono la *Trichina spiralis* in mezzo alle fibre muscolari, il *Distoma epaticum* nei canali biliari, la *Tænia echinococcus* nel cervello, coefficienti cui abbisogna l'Uomo per compiere bene il suo ciclo biologico, come non è il *Coccidium oviforme* nel fegato del Coniglio, tale fattore, perchè questo animale viva fisiologicamente.

Inoltre è ben difficile che si giungerà mai a dimostrare che un organismo che penetri in un altro per vivere a spese di questo per un determinato periodo di tempo, possa essergli di qualche giovamento; perchè a voler ciò ammettere bisognerebbe provare : o che il parassita anzichè sottrarre materiale nutritizio all'ospite gli ceda esso stesso del materiale, oppure che il parassita ceda tanto materiale all'ospite quanto questo dia al parassita.

La legge dunque biologica che ha dispoto che un essere per compiere il suo ciclo vitale deve menare vita parassitaria per un tempo più o meno lungo nel corpo di un altro essere, non prova secondo me, che l'ospite favorisca o protegga il parassita o si acconci volentieri ad averlo per commensale; ma prova all'incontro, che in Natura vi sono due categorie di organismi, quelli che vivono a spese degli altri e quelli che vivono indipendentemente da altri, questi ultimi però, causa la esistenza dei primi sono costretti ad averli nel proprio organismo, ma ciò facendo, lottano con tutte le loro potenzialità reattive perchè abbiano il minimo danno possibile dalla presenza dei parassiti nel loro corpo e perchè i parassiti usufruiscano il minor vantaggio possibile da questo soggiorno.

Ora in tutto ciò non c'è alcun accordo fra ospite e parassita ; c'è soltanto, da una parte, necessità del parassita di vivere nell'ospite e dall'altra necessità dell'ospite a far si che il parassita viva il meno comodamente possibile.

Abbiamo dunque non un reciproco adattamento ma una lotta per

l'esistenza fra ospite e parassita nel senso più ampio della parola. La produzione di connettivo attorno alla cisti parassitaria, deve perciò intendersi come la barriera che l'ospite appone fra il proprio organismo e quello del parassita.

Conferendo questo significato alla cisti avventizia circondante una cisti parassitaria o semplicemente un parassita, si viene ad essere in perfetta armonia con quanto la Patologia sperimentale comparata auspice il Metchnikoff insegna ; conferendo il significato che il Mingazzini e il Davaine vogliono dare alla produzione di connettivo attorno alle cisti parassitarie, noi distruggiamo d'un colpo il concetto fondamentale moderno della Infiammazione che vuole lotta ovunque esiste parassita ed ospite. Diciamo pertanto : *che l'incapsulamento connettivale da noi riscontrato attorno ai nidi tubercolari esistenti nei tuberculomi del cervello, ha lo stesso valore della produzione di connettivo attorno e fra gli elementi specifici dei tumori maligni, specialmente sarcomatosi e delle cisti fibrose avventizie cingenti le cisti parassitarie; si tratta cioè di un fagocitismo più progredito che si compie non più coi leucociti nella loro forma più semplice tal quale cioè si riscontrano nel sangue, ma coi leucociti altamente evoluzionati cioè a dire metamorfosati in elementi fissi di tessuto connettivo.*



ESAME ISTOLOGICO DEL SISTEMA NERVOSO. — Con questo studio ho avuto in mente di vedere : quale estensione e gravità nelle fibre della corteccia di ambedue gli emisferi, avevano determinato i tuberculomi descritti, e quali dei varî fasci della midolla spinale avevano risentito più danno dalle lesioni esistenti nel cervello dell' estinto.

Le colorazioni adoperate per lo studio del sistema nervoso furono : la colorazione di Pal per le fibre e la colorazione con fuxina acida, con litio-carminio e con safranina per la cellule gangliari. I pezzi di corteccia che servirono per questo studio, furono tolti : dai lobi frontali, dalle zone di Rolando e dai lobi occipitali di ambedue gli emisferi ; e i pezzi di midolla spinale unitamente all' involucro durale vennero presi : dalle regioni cervicale, dorsale, lombare, sacrale e della coda equina.

EMISFERI CEREBRALI — LOBI OCCIPITALI. — Le cellule gangliari e le fibre radiali e tangenziali della corteccia di questi lobi sono

profondamente alterate ; l'alterazione però è più cospicua nel lobo occipitale destro, dove aveva sede il tubercolo solitario, che nel sinistro. I frammenti corticali cui si parla in quest' esame furono toli in corrispondenza della terza circonvoluzione occipitale di ambedue i lati.

Osservando a piccolissimo ingrandimento una sezione di corteccia del lobo occipitale destro e confrontandola con quella dell' omonimo sinistro, si resta colpiti dalla gravità in ambedue, delle lesioni a carico delle fibre radiali e tangenziali e delle cellule piramidali; nel lobo occipitale destro infatti, mantre si rileva, la sparizione quasi completa delle fibre da tutti e quattro gli strati della corteccia e di gran parte delle cellule piramidali, non rimanendo profondissimamente alterate, quantunque riconoscibili, che le sole fibre corte di associazione, ossia le fibre ad U; nel sinistro, l'alterazione per quanto profondissima non è stata sufficiente, da distruggere qualsiasi traccia delle fibre radiali e da annientare completamente le cellule gangliari.

Guardando le sezioni a forte ingrandimento e procedendo dalla periferia verso il centro rileviamo : a carico dell' aracnoide e della pia madre, ispessimento notevole delle pareti e coalescenza al punto, che queste membrane appaiono come un' unica membrana. L'ispessimento è dato, tanto dal rigonfiamento dei fasci connettivali, quanto dall' infiltrazione leucocitaria, dalla dilatazione e iperemia vasale e dalla formazione di nuovi fasci di connettivo. I lucociti non sono egualmente distribuiti nel tessuto dell' aracnoide e della pia madre, ma stanno, o ammassati attorno alle pareti dei vasi, o raggruppati qua e là, forse in corrispondenza degli spazi linfatici dell' aracnoide madre, sotto forma di ammassi rotondengianti, molto simili per aspetto ai follicoli linfatici, e che a un piccolo ingrandimento possono essere scambiati per tubercoli. La loro natura tubercolare non può essere esclusa potendo essi rappresentare i primissimi stadi del tubercolo, quantunque manchiamo di dati per ammetterla sicuramente, essendone sprovvisti e delle cellule giganti e delle cellule epitelioidi. Gli stessi fatti si rilevano nell' aracnoide e nella pia madre che rivestono la corteccia del lobo occipitale sinistro.

Molto interessanti sono le lesioni delle cellule gangliari e di quelle della nevroglia, che si rendono assai evidenti colla fuxina

acida e colla safranina. Nella corteccia del lobo occipitale destro, sempre procedendo dalla periferia verso il centro si trova che l'alterazione delle cellule gangliari è più notevole verso gli strati superficialissimi che verso i profondi. In certi punti non è possibile rintracciare la presenza di cellule gliali e nemmeno di cellule nervose perchè il tessuto essendo andato incontro ad una necrosi per rammollimento, dei suoi elementi non rimane che detrito amorfo. Dove però l'alterazione non è giunta a tale grado, ivi si possono rintracciare le varie fasi di distruzione della cellula gangliare. Nel lobo occipitale destro, ciò che sopratutto colpisce, è la quasi totale sparizione delle cellule piramidali da tutti e tre gli strati del Golgi, sparizione che è accompagnata da quella delle fibre tangenziali e radiali. Nella corteccia di questo lobo abbiamo dunque la quasi completa assenza di ogni elemento nervoso, e la corteccia perciò rimane costituita dai soli elementi della glia, che in qualche punto appaiono come ipertrofici. Gli spazi pericellulari sono per la maggior parte vuoti e dove non lo sono, ivi fan vedere cellule nelle varie fasi della degenerazione del protoplasma e del nucleo, le quali preludiano alla completa distruzione dell'elemento piramidale. Nella corteccia del lobo occipitale destro la maggior parte degli spazi pericellulari è vuota e quegli spazi che non lo sono, mostrano o frammenti informi di protoplasma o di nucleo, o cellule piramidali rigonfiate e profondamente modificate nella forma per edemizzazione, al punto da apparire rotondengianti, od ovoidali, privi di nucleo, oppure con nucleo molto deformato, spinto alla periferia, pallidamente colorato e colla sostenza cromatica nella fase cariolitica; mentre nella corteccia del lobo occipitale sinistro ed in quella degli altri lobi, dove la distruzione delle cellule piramidali non è così vasta come in quella dell'occipitale destro, è più facile sorprendere tutte le varie fasi cui va incontro una cellula nervosa avanti di sparire dalla sua sede normale, lo spazio pericellulare.

Nella corteccia del lobo occipitale sinistro si trovano infatti le cellule per l'edemizzazione molto rigonfiate, deformate, ed alcune sfornite di nucleo, o perchè questo ha subito una tale ipocromatolisi da non potere più essere differenziabile colle sostanze coloranti o perchè è rimasto distrutto in causa dell'edemizzazione subita dalla cellula. In altri punti della corteccia, le cellule rigonfiate

e poco colorate mostrano nel protoplasma frammenti informi di cromatina, dovuti alla cromatolisi nucleare. Moltissime di queste cellule appaiono prive di prolungamenti ed è perciò che si vedono rotondeggianti od ovoidali. Finalmente in certi punti, si vedono gli spazi pericellulari completamente vuoti, o con frammenti di protoplasma e di nucleo come si è veduto nella corteccia del lobo occipitale destro. Tutte queste lesioni sono comuni ai tre stati di Golgi, però nella corteccia del lobo occipitale sinistro, la lesione degli elementi nervosi è più cospicua nelle parti superciali che nelle profonde.

Gli elementi della glia particolarmente nei punti ove è vasta la distruzione dell'elemento nervoso appaiono aumentati, molto probabilmente per proliferazione intervenuta allo scopo di sostituire le cellule gangliari distrutte. La proliferazione della nevroglia è più evidente nella corteccia del lobo occipitale sinistro che in quella del destro.

Le alterazioni più imporlanti però stanno a carico delle fibre tangenziali e radiali. Nel lobo occipitale destro tutte le fibre a direzione trasversale o trangenziali sono completamente distrutte, così non c'è più traccia dello strato delle fibre trangenziali più periferico e della stria di Gennari.

Sono distrutti anche le fibre radiali propriamente dette, e l'intreccio sopra-ed inter-radiale. Ciò che nella cortreccia permane, ma profondamente alterato, è lo strato delle fibre di associazione intra-corticali, che come è noto occupa, a livello dei fondo dei solchi, lo strato profondo di Golgi, e lo strato delle corte fibre di associazione o fibre ad U che in parte si possono stimare appartenenti alla corteccia.

Tanto le fibre di associazone intra-corticali, quanto le fibre ad U, si vede che hanno assunto debolmente la colorazione, di più si nota come il loro diametro trasverso sia aumentato e, lungi dall'essere continue sono invece spezzettate in varî punti in guisa da ri sultare tante fibrille di varia forma e dimensione. Molte delle fibre spezzetate hanno perduto la forma cilindrica ed appaiono varicose, dando alla fibara l'aspetto moniliforme. L'aumento del diametro trasverso della fibra è dato da un particolare rigonfiamento dovuto alla edemizzazione cui molto probabilmente e contemporaneamente subiscono il cilindro assile e l'involucro mielinico. Il

cilindro dell'asse deve essere quello che si risente prima di ogni altro componente la fibra, poichè fra le fibre spezzettate si trovano di quelle che hanno la forma di cilindri cavi risultanti solo dall' involucro mielinico senza alcuna traccia di cilindrassi; inoltre dove più le fibre sono lese, ivi si riscontrano numerosi globetti di mielina i quali devono essere stimati quali ultimi resti della fibra nervosa degenerata.

Nel lobo occipitale sinistro le alterazioni delle fibre sono meno gravi che nel destro, poichè mentre come, dicemmo, nel destro abbiamo la quasi completa distruzione delle fibre di associazione intracorticali e delle fibre ad U e la completa sparizione di tutte le fibre radiali e tangenziali proprie alla corteccia, qui invece abbiamo la degenerazione delle fibre associative intracorticali e delle fibre ad U meno estasa ; ridotte in numero e gravemente alterate, ma non scomparse del tutto le fibre radiali, quelle della stria di Gennari, dell' intreccio sopra-e inter-radiale e distrutte del tutto le fibre tangenziali propriamente dette o di Exner.

Zone rolandiche.— La corteccia che ha servito per quuest' esame venne tolta dalla porzione superiore della circonvoluzione frontale ascendente di ambedue i lati. In queste sezioni a carico dell' aracnoide e della pia madre si osservano gli stessi fatti di infiltrazione leucocitaria, di iperemia e dilatazione vasale, nonchè di rigonfiamento e neoformazione dei fasci connettivali, rilevati nelle pie meningi ricoprenti i lobi occipitali.

In breve anche qui troviamo i tessuti delle pie meningi molto succulenti ed in preda a un processo di leptomeningitide.

Nella zona rolandica destra, in causa dell' esitenza nella sua immediata vicinanza del tubercolo solitario che dal Prof. Durante fu asportato nella cranioresezione, notiamo le stesse profonde alterazioni a carico delle cellule piramidali rilevate nella corteccia del lobo occipitale destro. Anche qui la maggior parte degli spazi pericellulari appare vota, o contenere semplicemente frammenti di nuclei, e cellule con nuclei deformati, o prive addirittura. Aree di necrosi da rammollimento si scorgono eziandio; inoltre ove più la distruzione delle cellule piramidali appare progredita, ivi si rileva una manifesta proliferazione delle cellule della nevroglia. Nella zona rolandica sinistra le alterazioni a carico dell' elemento piramidale esistono, però in modo meno pronunziato

che nella destra e possiamo dire eguali a quelle riscontrate nell' elemento piramidale del lobo occipitale sinistro. In quanto alle fibre tangenziali e radiali dobbiamo rilevare che nella zona rolandica destra, queste si trovano quasi completamente distrutte poichè dello strato delle fibre tangenziali propriamente detto, della stria esterna di Baillarger, dei raggi midollari, e dell' intreccio sopra e inter-radiale non rimangono che pochissime fibre frammentate, altamente deformate e la maggior parte costituite dal solo involucro mielinico. Le fibre di associazione intracorticali e le fibre ad U sono anche esse alterate, ma la loro alterazione appare alquanto meno notevole di quella riscontrata nelle fibre omonime del lobo occipitale destro e può essere paragonata a quella rilevata nelle fibre del lobo occipitale sinistro. Nella zona rolandica sinistra troviamo che le fibre trangenziali e le radiali sono anche molto alterate e questa loro lesione può mettersi in confronto con quella delle fibre omonime del lobo occipitale sinistro.

Le fibre di associazione intracorticali e le fibre ad U, appaiono meno lese delle fibre tangenziali e delle radiali.

Lobi Frontali. — I frammenti di corteccia furono tolti dalla porzione anteriore della prima circonvoluzione frontale di ambedue i lobi prefrontali. Le alterazioni a carico delle pie meningi sono ugualmente pronunziate, ed il loro carattere è identico al già descritto. In quanto alle cellule piramidali, queste sono molto deteriorate particolarmente nella corteccia del lobo frontale destro, però non sembrano diminuite molto in numero, dappoichè di spazi pericellulari vuoti in questi preparati esistono pochissimi. Nel lobo frontale destro come nel sinistro, le fibre tangenziali e radiali si vede che hanno risentito molto danno dappoichè oltre ad essere molto diminuite in numero, lasciano scorgere quel complesso di deterioramenti che fummo in grado di rilevare nella corteccia degli altri lobi del cervello. Tali fibre mostrano tutti i segni di un avanzato processo degenerativo che preludia alla completa sparizione; infatti tanto quelle del lobo frontale destro, quanto quelle del sinistro mostrano alterazioni sotto forma di varicosità, di edemizzazione, di sparizione dei cilindrassi e di spezzettamento tanto in corrispondenza delle fibre componenti la stria esterna di Baillargher, quanto delle fibre raggiate, di quelle dell' intreccio sopra-ed interradiale, delle fibre di associazione intracorticale e delle fibre ad U.

Inoltre le fibre tanginziali propriamente dette appaiono completamente alterate, ma non del tutto distrutte.

Ricapitolando possiamo dire : *primo, che le fibre raggiate e le tangenziali sono mancanti addirittura nella corteccia del lobo occipitale destro e sinistro e nella zona rolandica destra; profondamente deteriorate e quasi distrutte nella zona rolandica sinistra e lese e molto ridotte in numero nei lobi frontali di ambedue i lati; secondo, che le fibre di associazione intracorticali e le fibre ad U, sono gravemente lese e quasi distrutte nel lobo occipitale destro ; alterate, ma in maniera meno grave nel lobo occipitale sinistro e nella zona rolandica destra e sinistra e poco deteriorate in ambedue i lobi frontali.*

La degenerazione dunque delle fibre radiali e tangenziali e delle fibre di associazione intracorticali e di quelle ad U è universale a tutta la corteccia degli emisferi ; però tale degenerazione, è più notevole nell'emisfero destro, ove aveva sede il neoplasma, e più particolarmente nei lobi in immediato contatto coi tubercoli solitari, che nell' emisfero sinistro lontano dai tubercolari; e che essa è più cospicua nelle fibre che stanno alla superficie delle circonvoluzioni che in quelle che stanno nella profondità dei solchi.

Lo studio delle degenerazioni delle fibre corticali nei casi di neoplasmi dell'encefalo fu fatto la prima volta da Biswanger (25) e Monakow (26) nel 1881. Questi autori però tennero conto semplicemente delle alterzioni delle fibre esistenti nel territorio corticale direttamente compresso dal tumore. Lo stesso fecero più tardi Anfimow e Blumenau (27) e Jacobson e Jamone (28). Il valore perciò di queste osservazioni è molto limitato.

Studi veramente completi, perchè come vedremo, si riferiscono non più alla corteccia posta in immediato contatto col tumore, ma alla corteccia di ambedue gli emisferi di un cervello in cui si era estrinsecato un neoplasma sono quelli di Raymond (29), Dinkler (30), Giannelli (31), e Schupfer (32).

Il Raymond per il primo fece uno studio sopra le lesioni diffuse nelle varie regioni corticali degli emisferi nei casi di neoplasmi con disturbi della psiche. Egli, mentre non riscontrò deterioramento di sorta nelle cellule gangliari e nei vasi, trovò invece la sparizione delle fibre tangenziali più manifesta nello emisfero sede del neoplasma. Questa alterazione, prenderebbe il suo inizio nel

secondo strato di fibre, che corrisponderebbe allo strato superficiale di Golgi, e sarebbe sempre più notevole nella zona superficiale delle circonvoluzioni che nella profondità dei solchi, dove la corteccia sarebbe protetta dalla compressione diretta del neoplasma. Il Raymond dice: che la compressione agirebbe in primo luogo sopra lo strato delle fibre tangenziali propriamente dette distruggendone la funzionalità, fondandosi per tale asserzione, sopra la maggiore intensità della lesione alla faccia superiore delle circonvoluzioni, cioè a livello dei punti ove il cervello posa direttamente contro la scatola cranica, essendo invece sempre meno avanzata nella profondità dei solchi, dove la corteccia sarebbe relativamente protetta dalla compressione.

Il Dinkler in opposizione al Raymond avrebbe trovato nel caso da lui studiato, che le lesioni erano più estese e diffuse nell' emisfero opposto a quello ove trovavasi il neoplasma che nell' emisfero, sede del tumore. In questo caso si trattava di un enorme neoplasma, il quale aveva leggermente alterato i lobi frontali, occipitali e temporali di destra.

Giannelli, studiò la corteccia in cinque casi di neoplasmi dell' encefalo accompagnati da disturbi di lesa psiche e fu in grado di stabilire, l'esistenza nella corteccia di un processo patologico diffuso a carico di tutti i suoi componenti. Egli vide che nel terzo e quarto strato di Golgi, ove la lesione degli elementi nervosi era più intensa, ivi il tessuto di sostegno appariva rarefatto, di aspetto omogeneo e le sue maglie talora confluendo, davano luogo a piccole lacune irregolari; di più notò sempre normali le cellule della glia e vuoti i vasi della corteccia. In quanto alle lesioni della cellula, egli trovò, che il nucleolo, il nucleo ed il corpo cellulare coi suoi prolungamenti, erano più o meno intensamente in preda ad un processo di degenerazione atrofica, caratterizzata non da una diminuzione del loro volume, ma da lesioni nella struttura e dall' esistenza di prodotti patologici nel contenuto. Il Giannelli osservò che le cellule dei vari strati non avevano un grado di alterazione diverso; in vicinanza infatti di cellule profondamente lese, esistevano di quelle con lesione appena all' inizio; e le cellule più alterate erano quelle del terzo e quarto strato. Egli notò, come non esista alcun rapporto sicuro fra l'intensità della lesione degli elementi cellulari e la località più o meno vicina alla sede del neoplasma; la lesione

più cospicua negli strati profondi si vede anche nelle sezioni di corteccia prese vicinissime al neoplasma. Il Giannelli non vide mai come fatto costante la sparizione delle fibre tangenziali più avanzata nel lato del tumore, inoltre notò che non esisteva alcuna differenza fra i preparati di parti superficiali di circonvoluzioni e quelli di parti situate nella profondità dei solchi. Nella zona motrice vide in tutti i casi una sparizione delle fibre interradiali e sopraradiali nonchè delle fibre autoctone di Ramon y Cajal. In ultimo vide che l'alterazione delle fibre nervose non si limitava semplicemente alle tangenziali, perchè anche i raggi midollari apparivano sempre lesi e in qualche caso si vedevano ridotti notevolmente in numero.

Schupfer finalmente studiando la corteccia degli emisferi in un caso di neoplasma del corno occipitale e del corno di Ammone del lato sinistro trovò : che la sparizione delle fibre tangenziali era più grave in prossimità del tumore e che erano assai meglio conservate le fibre poste nella profondità dei solchi di quelle poste alla periferia.

Abbiamo dunque : da un lato Raymond e Schupfer, che trovano il maggiore deterioramento delle fibre tangenziali nelle porzioni più prossime al neoplasma e negli strati superficiali della corteccia e non nei più profondi ; dall' altro, Dinkler che contrariamente a tutti, trova che le lesioni sono più estese nella corteccia dell' emisfero opposto anzichè nell' emisfero sede del tumore ; e da un altro lato finalmente, Giannelli, il quale in qualche caso trovò che la lesione era di pari grado nei due emisferi ; che non vi era differenza fra le parti superficiali e le profonde e che le cellule dello strato medio e profondo di Golgi erano deteriorate più di quelle degli strati superficiali.

Il nostro reperto, per quanto si riferisce alle fibre tangenziali si avvicinerebbe ai risultati di Raymond e Schupfer, poichè si è trovato che l'alterazione di queste fibre è più notevole alla superficie che nella profondità delle circonvoluzioni e le lesioni sono più vaste nell' emisfero e particolarmente nel lobo del lato del tumore che nell' emisfero del lato opposto ; però inquanto alle lesioni delle cellule piramidali tale reperto armonizza perfettamente con quanto dal Giannelli fu rilevato. Stando così le cose, a che cosa mai si debba ascrivere tale universale lesione, particolarmente

delle fibre tangenziali e radiali nei casi di neoplasmi intracranici? E' difficile poterlo dire, ma non è improbabile che molteplici abbiano ad essere le cause.

Esclusivamente all' azione meccanica della compressione determinata dal neoplasma non può essere; perchè contro tale ipotesi, alla quale giustamente il Giannelli si è ribellato, depongono i risultati sperimentali di Numeyer (33) e miei (34) sopra il cervello e quelli di Kahler (35) e Rosenbach (36) sulla midolla spinale. Da queste ricerche si venne a sapere che la compressione sperimentale provoca lesioni che rimangono esclusivamente localizzate al punto compresso. Io vidi infatti, nella corteccia del cervello di cani, che era stata sottoposta per 74 e 98 giorni ad una forte compressione con ciottoli, le degenerazioni delle fibre e delle cellule rimanere circoscritte al punto ove aveva agito il corpo comprimente e conchiusi perciò: « che le lesioni anatomo-patologiche esistenti nella corteccia del cervello dei cani, sono sempre limitate a quel segmento sopra il quale la compressione aveva agito direttamente qualunque possa esserne stata la durata e qualunque possa esserne stata l'entità ».

Ora io dico: è vero che i miei esperimenti e quelli di Numeyer non realizzano le condizioni che si osservano nei tumori intracranici, come in proposito esserva lo Schupfer, quantunque per conto mio dica, che non ho mai pensato che le realizzino, stante chè mentre i tumori crescono lentamente e continuamente i ciottoli o le sfere di metallo rimangono stazionari; ma non è men vero, che non è questa soltanto, e forse la più importante ragione, in rapporto ai fatti cui stiamo discutendo, che differenzi un tumore endocranico da un ciottolo o da una sfera introdottivi sperimentalmente; e quindi, a voler spiegare nel cervallo dell'uomo l'universalità delle degerazioni colla sola azione meccanica da compressione, senza tenere in calcolo altri fattori, come pare inclini lo Schupfer, difficilmente si riesce.

Se noi si dovesse prendere in considerazione soltanto il fattore meccanico della compressione per spiegare le degenerazioni, io direi: che a rigor di termini, si dovrebbero avere degenerazioni assai più gravi e vaste colla compressione sperimentale che colla patologica; dappoiché i disturbi di circolo e le lesioni maccaniche che in un cervello sano, debba produrre la repentina e violenta

introduzione nel cranio di un grosso ciottolo, come io ebbi ad osservare nei miei cani, non sono mai determinati, da un tumore endocranico; stantechè l'encefalo per il lento accrescersi del neoplasma finirà per assuefarsi alla sua presenza, e a tal segno, che esistono casi di neopasmi cerebrali che non furono scoperti che soltanto alla necroscopia, mentre non si assuefa mai, o molto difficilmente ad un corpo estraneo che bruscamente viene a spezzargli e a squilibrargli il suo normale funzionamento. Ciononostante, nei tumori cerebrali accade perfettamente l'opposto di ciò che interviene nella compressione sperimentale; le degenerazioni delle fibre e delle cellule corticali le troviamo vastissime e quasi universali nei tumori, e non solo allorquando i neoplasmi sono molto voluminosi, ma anche quando sono piccolissimi, come è il caso illustrato dallo Schupfer; la quale contigenza dice nettamente: che altri fattori, oltre l'azione meccanica della compressione, che è molto importante, è mestieri si invochino, perchè questa universale alterazione della fibra e della cellula corticale nei casi di neoplasmi intracranici possa essere spiegata; e questi fattori a mio credere sono: il prolungato disturbo della circolazione sanguigna e linfatica; la miggiore delicatezza nella tessitura istologica del cervello dell' uomo e quindi la sua minor resistenza a tutto ciò che può disturbarne il normale funzionamento; e finalmente la intossicazione continuata degli elementi nervosi dell' encefalo per azione dei prodotti di metamorfosi regressiva che si svolgono nei tessuti del neoplasma e per quella delle toxine secrete dal fattore specifico che avrà determinato il tumore.

Compressione dunque locale e generale per la presenza del neoplasma nalla cavità cranica e consecutivo disturbo nella circolazione del sangue e della linfa, donde stasi linfatica e sanguigna, ecco i due fattori principalissimi secondo lo Schupfer delle universali lesioni delle fibre e delle cellule corticali del cervello. Tutto ciò però non basta perchè si spieghi la diversità delle lesioni che determina la compressione sperimentale da quelle che produce la patologica; tanto più, che commpressione locale e generale e consecutiva stasi sanguigna e linfatica, sono comuni, quantunque in diversissimo grado, tanto ai cervelli sottoposti all' azione comprimente di neoplasmi, quanto a quelli sottoposti all' azione meccanica di corpi estranei; perciò a questi due fattori credo si debbano aggi-

ungere gli altri due sunnominati, che secondo me, sono i veramente importanti e che sono : la maggiore cagionevolezza degli elementi nervosi del cervello dell' uomo e l'azione prolungata delle varie toxine; fattori, che mentre dall' un canto si possono considerare quasi esclusivi ai cervelli che subiscono l'azione dei tumori intracranici, dall' altro canto, valgono moltissimo per darci ragione del perchè le degenerazioni della fibra e della cellula nervosa rimangono circoscritte allorquando un cervello subisce l'azione di un corpo estraneo e diventano universali tutte le volte che l'encefalo sottostà all' azione compressiva di un neoplasma intracranico.

» Per la interpetrazione di questa diversità di alterazioni, io scrissi nel mio libro sulla compressione dell' encefalo, due fattori importantissimi, fra altri, io credo si possano invocare : il primo, dipende dalla maggior delicatezza di tessitura che il cervello dell' uomo ha di fronte a quello del cane : maggior delicatezza di tessitura, la quale fa sì che mentre questo cervello risulti il più perfetto, nello stesso tempo riesca il meno resistente di tutti a sopportare le compressioni : il secondo, e credo il più importante dipende dalla diversa natura del corpo che determina le compressioni, poichè sono ben differenti i fatti che può indurre in un cervello, le presenza di un ciottolo, o di una palla di piombo, o d'argento, da quelli che possono generare i gliomi, i sarcomi, il tubercolo o il sifiloma ; dacchè nel primo caso il corpo estraneo altera il cervello mediante la compressione soltanto, mentre nel secondo caso i processi patologici ledono l'encefalo non solo con la loro azione meccanica, ma eziandio mediante un' azione chimica, proveniente dai prodotti di metamorfosi regressiva che si hanno consecutivamente alla necessaria alterazione degli elementi degli anziaccennati processi patologici e dai prodotti solubili ossia dalle toxine di quei parassiti che avranno prodotto il sarcoma, il tubercolo o il sifiloma » (**37**).

Che tanto le toxine organiche quanto le inorganiche, esercitino sopra gli elementi del sistema nervoso centrale, cioè a dire sopra la cellula e sopra la fibra nervose, un'azione deleterea di prim'ordine, per cui si hanno gravissime ed universali degenerazioni, donde disturbi funzionali notevolissimi ; oggi è un fatto su cui non può cadere dubbio alcuno ; e senza che io ricorra alle numerosissime esperienze fatte nell'animale con toxine organiche e inorganiche e

ai numerosi reperti anatomo-patologici tratti da una gran copia di osservazioni cliniche, per suffragare il mio asserto, mi piace riferire una classica osservazione del Murri, la quale è di eccezionale importanza, come quella che dimostra non solo che specie di disturbi nervosi si possono avere consecutivamente alle autointossicazioni, ma eziandio a che gravità di alterazione possono andare incontro per intossicazioni intestinali, gli elementi componenti il sistema nervoso centrale.

Si trattava di una donna che precedentemente alla malattia che l'uccise, aveva sempre goduto ottima salute. La malattia esordì circa dieci mesi prima della morte, con diarrea profusa che si mantenne per due mesi, dopo di che cessò per ricominciare una seconda volta trascorsi due mesi, e questa volta senza mai più cessare fino alla morte. Trascorsi sei mesi dall'inizio della malattia, l'inferma ebbe un grave attacco di vertigini che disparve rapidamente lasciando un certo grado di confusione mentale e diplopia, ed alcuni giorni dopo ebbe un secondo attacco ma questa volta accompagnato da perdita di coscienza. A ciò seguirono : dimagramento; disordini nell' incesso al punto che se essa tentava di camminare si sentiva irresistibilmente attratta verso sinistra e in maniera tale che se non era sorretta cadeva al suolo; debolezza negli arti inferiori; incoordinazione nei movimenti dell' arto superiore sinistro; alterazione nei riflessi; mancanza di papilla da stasi; vomiti; accessi di vertigini gravissimi anche stando coricata a letto; impossibilità di reggersi in piedi; accessi convulsivi; parestesie singolarmente nel lato sinistro del corpo; movimenti coreiformi nelle dita; nistagmo e delirio che si manifestò negli ultimi quattro giorni che precedettero la morte.

La necroscopia di questo caso straordinario non fece rilevare nulla di notevole nella cavità toracica ma nell' addome fece riscontrare notevoli fatti infiammatori a carico della mucosa di tutto il tratto intestinale e nella cavità cranica un rammollimento quasi generale di tutta la sostanza nervosa dell' encefalo e particolarmente dei talami ottici e delle porzioni posteriori del cervelletto.

L'esame istologico rintracciò fatti di degenerazione nelle cellule delle corna anteriori della midolla spinale, nelle cellule dei nuclei di origine dei nervi cranici aventi sede nella midolla allungata e nel ponte di Varolio, e nelle cellule della corteccia del cervello,

nelle quali esisteva diminuzione della sostanza cromatica e grave alterazione nei nuclei. I fatti più culminanti però furono: le degenerazioni negli elementi nervosi del cervelletto, le quali spiegavano benissimo la sindrome cerebellare presentata dell'inferma durante la vita. In questo esame infatti si trovarono, le cellule di Purkynie gravemente alterate e straordinariamente diminuite in numero. La linea di separazione fra gli strati molecolare ed il granulare non era più data da una catena non interrotta di cellule di Purkynie, poichè per lunghi tratti queste mancavano, essendo andate incontro al disfacimento completo del loro corpo. Queste cellule apparivano o vacuolizzate, o rarefatte, o col corpo protoplasmatico rigonfio e granuloso, o prive di nucleo, altamente deformate; in breve mostravano tutti i passaggi che dovevano menare alla distruzione completa della cellula in quei luoghi ove si disse che era mancante.

In base alla sindrome fenomenica presentata dall'inferma ed al reperto anatomo-patologico il Murri concluse: « Che in avvenire il medico che diagnosticherà un' affezione cerebellare dovrà anche considerare la possibilità di una *degenerazione cerebellare dovuta a intossicazione intestinale*, quantunque tale contingenza indubbiamente appartenga alle rarissime complicazioni di un' affezione intestinale » (38).

Se dunque un autointossicazione intestinale può essere causa di così gravi degenerazioni negli elementi componenti l'intima tessitura del cervello e del cervelletto; quanto più lo dovrà essere per gli stessi elementi; la intossicazione causata dai prodotti di metamorfosi regressiva a dalle toxine dei parassiti che si contengono nei tumori intracranici di natura sarcomatosa, sifilitica o tubercolare?

MIDOLLA SPINALE — REGIONE CERVICALE. — Non meno interessante che nell' encefalo, riesce allo esame istologico, lo studio delle lesioni nella midolla spinale. Guardando a piccolissimo ingrandimento, sezioni seriali della midolla cervicale, si rilevano in tutte alterazioni notevoli, tanto a carico delle membrane di rivestimento: dura madre, arcnoide e pia madre, quanto degli elementi propri della midolla: cellule gangliari e fibre nervose. Tali membrane si vedono straordinariamente ispessite e sono con difficoltà differenziabili l'una dall' altra, dappoichè la infiltrazione parvicellulare e

l'edemizzazione dei loro componenti istologici le fa apparire come se costituissero un' unica membrana. Osservando le sezioni a forte ingrandimento si rileva come non esista più una linea di separazione netta fra dura madre, aracnoide e pia madre essendo tutte e tre intimamente aderenti l'una all' altra e tale aderenza è sopratutto notevolissima fra l'aracnoide e la pia madre causa un copiosissimo prodotto infiammatorio di notevole spessore, il quale ci maschera assolutamente il sito dove debba avere avuto inizio il processo.

L'ispessimento notevole della dura madre è dato tanto dal rigonfiamento per edemizzazione dei fasci connettivali, quanto dall' abbondantissima infiltrazione leucocitaria, dalla iperemia e dilatazione di vasi, e dallo strato di connettivo neoformato. L'ispessimento di tale membrana è piuttosto parziale, dappoichè appare a carico della sua faccia interna, laddove quello della pia e dell' aracnoide madre è generale interessando equabilmente lo spessore di ambedue le membrane.

Proseguendo l'esame a questo stesso ingrandimento rileviamo, che i tessuti di tali membrane sono grandemente succulenti, sia in causa dell'edema, sia in causa dell' infiltrazione parvicellulare. I fasci fibrosi dello strato interno della dura madre sono rigonfiati e qua e là allontanati gli uni dagli altri, e negli spazi rimasti, si scorge un essuadto di aspetto fibrinoso con numerosi leucociti, in certi punti raggruppati ad ammassi rotondeggianti. Gli stessi fatti, ma più imponenti, si scorgono nella pia e nell'aracnoide madre. Quivi la dilatazione e la iperemia vasale sono molto più notevoli di quanto le vedemmo nella dura madre, e i leucociti non solo stanno infiltrati fra i fasci connettivali, ma raccolti attorno alle pareti dei vasi, o alle radici dei nervi spinali, ovvero raggruppati qua e là, in forma di ammassi rotondeggianti, con lo stesso aspetto con cui li vedemmo nell'aracnoide e nella pia madre rivestenti gli emisferi cerebrali, molto simili a tubercoli miliari, ma che io sono in dubbio di chiamare tali, mancandomi in essi i costituenti elementari del granuloma tubercolare propriamente detto. Certo è, che, questa infiltrazione leucocitaria non ha nulla di comune coll'infiltrazione parvicellulare che si verifica nelle suppurazioni acute, dappoichè i leucociti qui raccolti non appaiono nè frammentati, nè in via di disfacimento per degenerazione come interviene in quelli che costi-

tuiscono il pus; qui abbiamo leucociti integri, sia nel protoplasma che nel nucleo, e quest' ultimo non sembra alterato, nè nella forma e nemmeno nella sua proprietà di assumere le sostanze coloranti. Infatti le sostanze coloranti sono ugualmente fissate dalla cromatina dei nuclei degli elementi posti all'esterno dei vasi, quanto da quella degli elementi contenuti nei vasi stessi.

Ma se questi ammassi di leucociti non rappresentano nè tubercoli e nemmeno focolai suppurativi, cosa mai potrebbero rappresentare? La loro natura suppurativa per le cose già dette mi pare debba essere esclusa, la loro natura tubercolare però, quantunque come dissi, non abbia sufficienti dati per ammetterla, pur nondimeno non oserei escluderla potendo essi rappresentare i primissimi stadi del tubercolo, tanto più che è mesteri tenere presente, come possano sussistere tubercoli senza cellule giganti e costituiti semplicemente dalla zona granulomatosa.

Dicemmo che l'infiltrazione leucocitaria è anche notevole attorno alle radici dei nervi spinali, queste radici infatti appaiono gravemente lese e in preda a un'atrofia da compressione. Molte delle fibre che le compongono, hanno assunto pallidamente l'ematossilina Weigert, alcune mancano di cilindrasse, altre l'hanno rigonfio, come edemizzato e sfornito di guaina midollare, altre finalmente appaiono del tutto atrofiche e dove i segni dell'atrofia sono più manifesti, ivi le fibre si vedono allontanate l'una dall'altra e nello spazio interfibrillare ammassi di leucociti arrivati non per scontinuità dell' epinevrio e dell'endonevrio, ma per emigrazione attraverso le pareti dei vasi che hanno sede tanto nello spessore del perinervio generale, quanto negli interstizî fra endonervio ed endonervio. I leucociti infatti abbondano straordinariamente attorno alle pareti di tali vasi i quali sono in uno stato di iperemia ed il cui lume è notevolmente dilatato.

Siamo dunque di fronte a un' atrofia da compressione delle radici spinali quale si verifica talvolta, come dicono Gawers e Taylor (**39**) nei casi di pachi — e lepto-meningitide ipertrofica.

E veniamo alle lesioni esistenti nella sostanza bianca e grigia di questa midolla. In tutte le sezioni seriali della midolla cervicale, a un piccolissimo ingrandimento, quello che colpisce ; nella sostanza bianca, è un alterazione circoscritta esclusivamente alla periferia della midolla più notevole nella metà posteriore che nell'

anteriore; e nella grigia, una diminuzione dell' intreccio delle fibre nervose esistenti nelle corna anteriori e posteriori. Guardando a fortissimo ingrandimento si osserva, che i vasi che dalla pia madre si insinuano nella midolla sono dilatati e iperemici; che attorno alla periferia della midolla qua e là esistono ammassi di leucociti immigrati; e che le fibre esistenti in tutta la periferia della sostanza bianca sono degenerate e alcune atrofizzate.

A questo stesso ingrandimento rileviamo come molte di queste fibre appaiono edemizzate, altre invece sono prive di cilindrasse, altre con cilindrasse molto edemizzato e sfornite di guaina midollare ed altre finalmente atrofizzate per compressione determinata tanto dall' infiltrazione leucocitaria esistente fra la faccia interna della pia madre e l'esterna della midolla, quanto dalla proliferazione qua e là del tessuto di sostegno ossia degli elementi della nevrolgia. Questa degenerazione o meglio questa rarefazione periferica della sostanza bianca midollare, nella porzione posteriore della midolla e precisamente in corrispondenza dei fasci di Goll e di Burdach è molto più notevole che nelle altre parti, la quale contingenza, come diremo, ha la sua ragione di essere.

L'esame istologico della sostanza grigia mostra come le alterazioni siano poche. A carico delle cellule dei gruppi mediale anteriore e posteriore della corna anteriori non si rilevano alterazioni di sorta, e lo stesso si dica delle cellule centrali e marginali delle corna posteriori. Anche le cellule costituenti la sostanza gelatinosa di Rolando appaiono normali. Gli unici fatti degni di nota sono in rapporto colla diminuzione di quell' intreccio di fibre nervose che normalmente si trovano in corrispondenza delle corna anteriori e posteriori, diminuzione però che è molto più cospicua posteriormente che anteriormente.

Regione dorsale. — Anche nulla regione dorsale l'esame microscopico delle sezioni seriali colorate col Pal e colla fuxina acida oppure colla safranina, fanno rilevare più o meno gli stessi deterioramenti riscontrati nella regione cervicale; solo che qui le alterazioni a carico della midolla e delle radici dei nervi spinali, particolarmente nella metà posteriore della stessa, appaino più cospicue. Nella superficie interna della dura madre e nell'aracnoide e nella pia madre si rilevano tutti i fatti della vera pachi e leptomeningitide cronica tuberculare cui si è discorso avanti ed anche

qui, l'infiltrazione parvicellulare in forma di ammassi rotondeggianti, conserva lo stesso aspetto che riconoscemmo nella regione cervicale, risultando cioè costituita da soli leucociti e mancando di qualsiasi accenno e cellula gigante o ad elementi epitelioidi.

Le radici dei nervi spinali sono anche molto alterate, esse hanno le fibre che le costituiscono in parte prive di cilindrasse, in parte con cilindrasse molto edemizzato, in parte sfornite di guaina mie linica, in parte finalmente atrofizzate. Tali radici sono circondate da ogni dove di leucociti e il loro perinervrio generale appare ispessito, infiltrato di leucociti ma non scontinuato. Fra fibra e fibra si vedono anche leucociti amassati.

Le lesioni attorno alla periferia della midolla sono in queste sezioni molto notevoli e conservano lo stesso carattere di quelle rilevate nella midolla cervicale cioè a dire, più notevoli posteriormente che anteriormente. In qualche sezione l'alterazione periferica appare molto cospicua ed è facile convincersi del nesso che intercede fra l'alterazione midollare e quella della pia e dell'aracnoide e madre, per mezzo dei vasi che da queste ultime vanno a insinuarsi nella midolla. In certi punti si vedono dei tralci di connettivo neoformato che dalle pareti piali ispessite si insinuano assottigliandosi fra mezzo alle fibre nervose dei fasci midollari, costituento delle picolissime aree di sclerosi.

Le fibre comprese fra mezzo a queste aree appaiono del tutto atrofiche in causa dell'incipiente processo sclerotico. Queste lesioni di sclerosi, come anche le degenerazioni delle fibre sono molto più evidenti nelle porzioni posteriori della midolla che nelle anteriori.

Nulla di nuovo offre l'esame della sostenza grigia della regione dorsale. Le cellule piramidali delle corna anteriori e posteriori, come quelle della sostanza gelatinosa di Rolando e delle colonne di Stilling-Clark non sembrano nè diminuite in numero e nemmeno deformate ; solo si rileva una diminuzione delle fibre nervose che normalmente trovansi in corrispondenza delle corna anteriori e posteriori, diminuzione molto più spiccata posteriormente che anteriormente.

Regione lombare e sacrale e della coda equina. — Le sezioni seriali delle regioni lombare, sacrale e dalla coda equina non fanno rilevarie alcun nuovo fatto degno di singolare menzione, oltre quelli già descritti nelle regioni cervicale e dorsale. La differenza, se mai

possiamo ammetterne una, risiede non nella varietà della lesione, ma nella maggiore intensità. Qui infatti le alterazioni a carico delle meningi sono più vaste e cospicue e lo stesso possiamo dire di quelle che interessano le radici dei nervi spinali e la parte bianca e grigia della midolla.

I segni della pachi e leptomeningitide sono nettissimi in queste regioni e l'infiltrazione parvicellulare e l'edema sono veramente imponenti tanto nella porzione delle pie miningi che riveste la faccia posteriore della midolla, quanto in quella che riveste i nervi della coda equina. In corrispondenza della coda equina sono straordinariamente numerosi quegli ammassi di leucociti di forma ratondeggiente che noi rilevammo nelle meningi rivestenti le altre regioni della midolla, i quali anche qui presentano i caratteri già descritti.

I nervi della coda equina come le radici da cui provengono sono in preda a grave degeneazione e mostrano qua e là nettissime traccie di sclerosi. Gli stessi fatti ma più cospicui si riscontrano alla periferia della midolla, ove la rarefazione delle fibre in certi punti è notevolissima ed ove i fatti di sclerosi sono più evidenti che nelle regioni cervicale e dorsale. Le lesioni che tali fibre mostrano nei loro cilindrassi e nelle guaine mieliniche, sono identiche alle già descritte nelle regioni superiori, solo qui colpisce il fatto che i fasci di Goll e di Burdack sono molto rarefatti e in qualche sezione per una estensione di quasi la metà. Nella sostanza grigia abbiamo integrità della cellula piramidale ma diminuzione dell'intreccio nervoso delle corna anteriori e posteriori, più notevole in corrispondenza delle corna posteriori.

Un fatto costante rilevato nell'esame istologico, è l'alterazione nei tessuti della midolla più grave nella metà posteriore che nella anteriore. Questa contigenza che non è rara a riscontrarsi, particolamente nelle meningiti subacute e croniche non può essere ad altro attribuita se non agli essudati i quali per la posizione orizzontale dell'infermo si raccolgono sempre nelle parti più declivi e si comprende che in questi casi, le parti più declivi sono precisamente quelle che corrispondono alla metà dorsale o posteriore della midolla. « Generalmente, scrivono Gawers e Taylor, l'alterazione è maggiore nella superficie midollare posteriore che nell'anteriore, e ciò è molto probabilmente in causa dell'influenza della

posizione coricata, la quale determina il passaggio all'ingiù dei fluidi linfatici contenenti materiali capaci di eccitare ed aumentare l' infiammazione » (40).

In base a tutto quanto siamo venuti esponendo possiamo formulare così la nostra diagnosi istologica : degenerazione e qua e là sclerosi con rarefazione delle fibre della porzione marginale dei fasci : piramidale diretto, fondamentale del cordone antero-laterale, di Gawers, e cerebelloso diretto, nonchè delle fibre della porzione marginale o media dei fasci di Goll e di Burdack ; in breve una mielite cronica marginale per continuità o mielite cronica annulare come direbbero Gawers e Taylor consecutiva a pachi-e leptomeningitide cronica probabilmente di natura tubercolare.



Considerazioni Epicritiche. — Essendoci ora note le alterazioni che nell'encefalo e nella midolla spinale, avevano provocato i tumori tubercolari e la pachi-e leptomeningitide croniche, premettiamo avanti di procedere alla discussione dei sintomi rilevati nell'estinto prima e dopo l'operazione, qualche considerazione in attinenza all' etiologia ed alla patogenesi.

Etiologicamente non esiste alcun dubbio, che causa dei processi rilevati non sia stata un'infezione secondaria con bacilli della tubercolosi, i quali guadagnarono il cervello per la via sanguigna. Dal punto di vista patogenetico perciò il caso è altamente importante, poichè dimostra coll'evidenza di un esperimento, che un trauma sopra il cranio di individui in preda a infezione di altri organi, se non riesce fatale per sè stesso, può esserlo in un tempo più o meno remoto, per il richiamo nel cervello di quei germi cui è affetto l'individuo, nel punto, creato dal trauma, luogo di minor resistenza. Nel nostro caso, l'estinto era affeto di tubercolosi polmonare di data antica come dalla necroscopia fummo in grado di rilevare, e la caduta sulla regione occipitale deve avere determinato senza dubbio, la localizzazione dei germi specifici nel sito, ove due mesi prima dell' inizio dei sintomi, egli cadendo aveva colpito.

L'influenza dei traumi nella genesi dei tumori intracranici, è oggi provatissima la mercè di numerose osservazioni ; e senza riferire tutti i casi fino ad ora noti, cosa che non riuscirebbe di utilità

alcuna, mi contenterò di citare : due casi di Montenovesi, uno di De Paoli, uno di Spadaro, uno di Postempski, uno di Mazzoni, uno di Giordano, due di Guldenarm e Winkler, uno di Vermey e Winkler ed uno di Wayenburg e Westerman, in tutto dieci casi, i quali sono più che sufficienti per dimostrare la verità dell' asserto.

Nei due casi di Montenovesi (41) ambedue inediti, il trauma nel primo era accaduto due mesi e mezzo avanti l'inizio dei sintomi che fecero sospettare un tumore endocranico, e nel secondo un anno e mezzo prima. In ambedue i casi alla craniectomia si riscontrarono tumori ; nel primo, il tumore aveva sede nella parte midollare dei lobi frontale e parietale di destra e nel secondo, il tumore era carico della zona rolandica destra. Nel caso di De Paoli (42) i fenomeni si iniziarono dopo un trauma cranico e la cranioresezione fatta due anni dopo, rivelò la presenza di un voluminosissimo glio — sarcoma interessante gran parte dell' emisfero destro. Nel caso di Spadaro (43) i sintomi del neoplasma si abbero circa tre mesi dopo il trauma, e l'opezione rilevò la presenza di un sarcoma della zona rolandica destra. Mazzoni (44) estripò un glioma dal centro ovale della regione parietale destra i cui sintomi si erano iniziati circa 5 mesi dopo un trauma cranico. Postempski (45) estirpò un voluminoso sarcoma dalla regione fronto-parietale destra da un malato che 30 anni prima aveva avuto un trauma sulla stessa regione. Giordano (46) trovò un angioma nella zona rolandica sinistra in un individuo che 3 anni prima aveva avuto un trauma in corrispondenza di questa regione. Nei casi Guldenarm e Winkler (47) il trauma, in ambedue era avvenuto 5 anni prima dell'inizio dei fenomeni, e la craniectomia riscontrò nel primo, un tumore nella zona rolandica sinistra, e nel secondo, un sarcoma sfero-cellulare nella regione parietale sinistra. Vermey e Winkler (48) operarono un glioma della zona psico-motrice sinistra in un uomo che 36 anni prima era stato colpito dal piede di una vacca in questa stessa regione. Finalmente Wayenburg e Westerman (49) estriparono un sarcoma fuso-cellulare dal lobo frontale e dalla zona rolondica sinistra da un uómo che circa 4 anni prima aveva avuto in rissa numerosi colpi in questa regione.

Abbiamo dunque 9 tumori intracranici, non tenendo conto di quello di Giordano, il quale non essendo stato estirpato non possiamo sapere se si trattava realmente di angioma o pure di ectasia vasale

pura e semplice, nei quali il trauma è stato un momento di grandissima importanza nella loro produzione. Di questo avviso sono anche Winkler e Rotgans (50), i quali riferendo i casi di Gueldenarm e Winkler, di Vermey e Winkler e di Wayenburg e Westerman conclusero: « che nei quattro casi precedenti, vi è stato un rapporto intimo fra il traumatismo e i tumori, sia che la loro sede è stata la medesima, sia che la cefalea ha immediatamente seguito il trauma. » In tutti i casi da noi citati la sede del tumore è stata sempre quella dove mesi o anni prima il trauma aveva agito. Ma un trauma può esso mai generare tumori ? Noi crediamo che i traumi agiscano sempre da fattori determinanti e mai da fattori efficienti; poichè riteniamo, che alla genesi dei tumori maligni occore l'intervento di particolari parassiti, che secondo noi sono i blastomiceti, nel modo istesso che alla formazione del tubercoloma e dell'actinomicoma occorrono rispettivamente il Bacillo della tubercolosi e la Streptotrix actinomices.

Entriamo ora all'analisi dei sintomi. Tenendo presenti i fenomeni nell' ordine come si sono succeduti e mettendoli in rapporto con quanto fummo in grodo di rilevare all'operazione, alla necroscopia, nonchè all' esame istologico dei vari tubercoli solitari e dei tessuti del cervallo e della midolla, noi giungeremo a renderci conto esattamente di qualsiasi sintoma.

Sappiamo infatti che i fenomeni si inziarono con indebolimento progressivo della funzione visiva nei segmenti retinici di destra dei due occhi e con un accesso di epilessia bravais-iaksoniana a sinistra e ciò, trascorsi due mesi circa da una caduta, fatta dall' estinto, mentre era allo stato di ebrezza, sopra la regione occipitale. Egli diceva che gli oggetti, quando gli erano posti a sinistra, quando cioè dovevano essere ripercossi i loro raggi sopra i segmenti destri delle due retine non erano percepiti; gli si era dunque sviluppata una emianopsia bilaterale omonima destra in seguito a trauma sulla regione occipitale corrispondente; emianopsia la cui ragione d'essere, fummo in grado di rilevare alla necroscopia, nella quale constatammo, la presenza di un grosso tubercolo solitario occupante l' intiera sostanza bianca del lobo occipitale destro e situato più particolarmente in direzione della faccia interna di questo lobo, distruggendo perciò completamente il centro corticale visivo di destra. Il tumore infatti aveva alterato profondamente la

sostanza grigia del cuneo e della porzione superiore del lobulo linguale appianando perciò quasi da annientarle completamente le scissure calcarina e parieto occipitale interna. Dicono Dejerin e

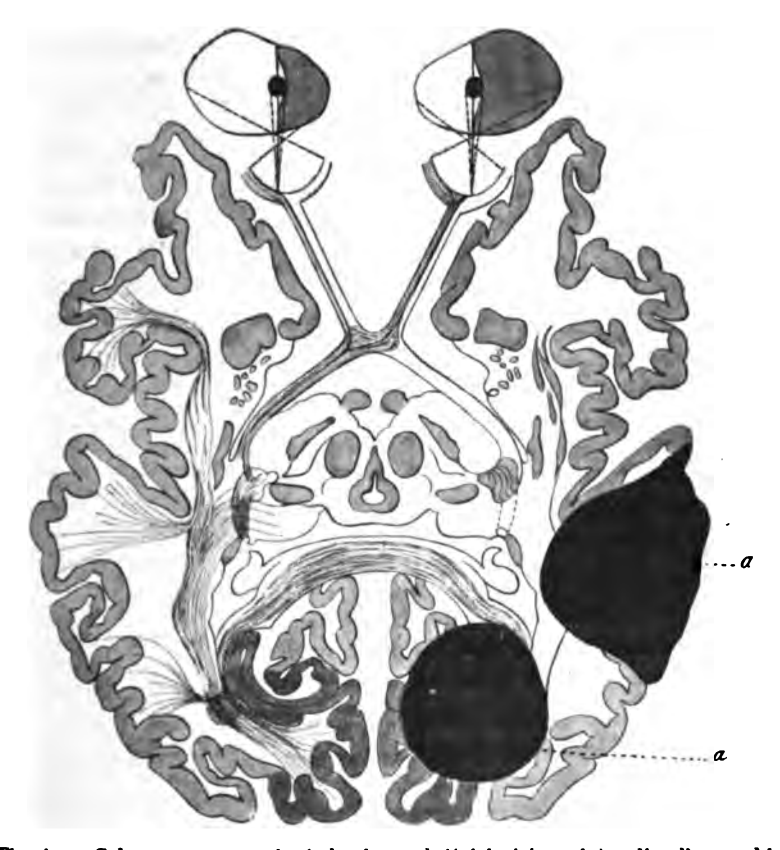


Fig. 1. — Schema rappresentante le vie conduttrici visive, cioè a dire l'appecchio visivo centrale o intracerebrale e l'appariechio visivo periferico o extracerebrale riportato dalla classica opera sull' Anatomia dei contri nervosi di Dejerine e M. Dejerine-Klumpke allo scopo di dimostrare i rapporti che intercedevano fra i tubercoli solitari del lobo occipitale e del lobo parietale coll' apparecchio visivo iniraemisferico. *a*, Tubercolo riscontrato alla necroscopia ; *b*, Tubercolo estripato alla cranio-resezione.

M. Dejerin-Klumpke che « la faccia interna del lobo occipitale e più particolarmente il dominio della scissura calcarina sono la vera sede del centro corticale visivo » (51).

L'emianopsia continuò a progredire e trascorso un anno dall'-

inizio dei sintomi, l'estinto ebbe un secondo accesso eguale a quello avuto un anno prima e da questo periodo gli accessi si resero sempre più gravi ripetendosi quasi ogni mese e circa un anno avanti di subire la cranicetomia tali accessi si erano resi più frequenti. L'epilessia incominciava quasi sempre dall'arto superiore sinistro poi si diffondeva a tutta la metà sinistra del corpo e terminando, lasciava l'estinto con emiparesi sinistra per delle ore. Ora questi accessi epilettici così frequenti, io credo che andrebbero attribuiti al tubercolo solitario del lobo parietale estirpato alla craniectomia dal Prof. Durante, e non già al tubercolo solitario riscontrato da me nel lobo occipitale alla necroscopia, in base alla considerazione, che fra il primo accesso epilettico e i successivi che mai più cessarono, è interceduto un anno, ed io credo perciò, che il primo accesso è mestieri sia considerato come la risultanza di un' irritazione riflessa della zona rolandica destra causa il tubercolo del lobo occipitale destro, mentre il secondo e i successivi che insorsero un anno dopo il primo, vanno considerati come il risultato dell' irritazione diretta della zona rolandica destra causa l'esistenza del tubercolo solitaro nel lobo parietale dello stesso lato. E che ciò possa essere la verità viene desunto anche dal fatto, che il tumore del lobo parietale all' esame istologico si è riconosciuto di data molto più recente del tumore del lobo occipitale; e quindi è da supporre, che il periodo di un anno, che è interceduto fra il primo accesso e il secondo e i successivi, sia stato il periodo in cui è avvenuta l'evoluzione del tumore estirpato alla cranioresezione, ossia del più giovane; e in tal modo viene spiegata da une parte, la sosta di un anno degli accessi bravais-iacksoniani, e dall' altra, l'indebolimento progressivo della forza muscolare degli arti di sinistra, l'ipotrofia degli stessi, nonchè l'indebolimento della funzione uditiva dell' orecchio sinistro che si manifestarono dopo due anni circa dall' inizio dei primi fenomeni.

Ritenendo che tutti i sintomi enunciati (emianopsia, diminuzione dell' udito a sinistra, epilessia bravais — iacksoniana a sinistra e paresi degli arti dello stesso lato), potessero dipendere da un neoplasma posto in corrispondeza della regione parietale destra, poichè come l'annessa figura dimostra, con un tumore localizzato in B (Fig. 1) tutti i sintomi venivano ad essere spiegati, compresa l'emianopsia bilaterale omonima destra ; il Prof. Durante fece diagnosi di un tumore localizzato nella regione parietale destra

ed alla cranioresezione infatti asportò un tubercolo solitario quanto un uovo di colomba del peso di 30 grammi, che aveva sede nella porzione anteriore delle due circonvoluzioni parietali interessando parzialmente anche il terzo superiore della circonvoluzione parietale ascendente.

La nessuna modificazione dei sintomi dopo l'intervento operativo, la formazione e la persistenza dell' ernia cerebrale, ed il paggioramento progressivo dei fenomeni fino alla morte, con l'aggiunta di nuovi, indicarono nettamente; che il tubercolo allontanato coll' operazione non era unico, quantunque nelle esplorazioni ulteriori del cervello in direzione del lobo occipitale colle punture, non si riuscisse a rintracciare nulla che avesse potuto autorizzarci ad una seconda craniectomia in corrispondenza della reigone occipitale destra.

Al 2° giorno dopo l'operazione infatti, l'estinto fu colto tre volte da accessi epilettici alcuni dei quali generalizzati e pensando che ciò potesse dipendere da raccolte ematiche nel cavo, causa il funzionamento diffettoso del drenaggio di garza lasciato nella cavità cranica, si tolsero le bende e venne allontanato il drenaggio. Non si ebbe da ciò alcun miglioramento e la sera istessa si sviluppò un nuovo accesso che da sinistra si diffuse a destra coinvolgendo la psiche. All' 11° giorno tolti i punti si trovò la formazione di una piccola ernia cerebrale nel punto ove prima esisteva il drenaggio di garza, la quale crebbe per vari giorni fino a raggiungere la dimensione di un grosso mandarino, indi cessando di crescere, incominciò a necrotizzarsi parzialmente. Colla formazione dell'ernia e colla sua necrosi parziale coincisero i maggiori disturbi nella motilità, e nella sensibilità degli arti di sinistra, l'aggravarsi degli accessi epilettici e l'iniziarsi dei fenomeni di lesa psiche. L'emianopsia non si modificò mai e negli ultimi giorni l'estinto era quasi ridotto alla completa amaurosi.

Al 53° giorno dopo l'operazione cioè a dire 34 giorni prima della morte, nell'estinto si manifestarono nuovi sintomi i quali denotarono, come noi fummo in grado di rilevare dall'esame istologico della corteccia degli emisferi e della midolla spinale, che il processo aveva incominciato a diffondersi alla base del cervello ed alla midolla spinale sotto forma di pachi e lepto-meningitide. Questi nuovi sintomi furono preceduti ed accompagnati da una tempera-

tura che per 34 giorni, si mantenne costante fra i 38.5° C, i 39° C e i 39.5° C e con qnesta temperatura coincisero: prima la paralisi degli arti di sinistra poi quella degli arti di destra a carattere spastico; la quasi completa amaurosi; la sordità a sinistra; gli accessi bravais-iacksoniani generalizzati, frequentissimi, gravissimi e coinvolgenti la psiche; la paralisi retto-vesicale; la rigidità nucale; i dolori occipitali; i vomiti e la completa paralisi intellettuale ad un punto tale che l'estinto negli ultimi giorni si poteva considerare come veramente in preda a demanza paralitica.

Se ora ricapitoliamo i risultati emersi dalla necroscopia e dall esame istologico e li confrontiamo con i fenomeni osservati prima e dopo l'operazione, noi siamo autorizzati a concludere :

I. Che la non modificazione dell'emianopsia bilaterale omonima destra, consecutivamente all'estirpazione del tubercolo solitario dal lobo parietale destro era dipendente dall' esistenza in corrispondenza del lobo occipitale dello stesso lato, di un tubercolo solitario comprimente la scissura calcarina il quale era di età più avanzata di quello estirpato alla cranio — resezione dal Prof. Durante dal lobo parietale e del conglomerato tuberculore da me riscontrato alla necroscopia sulla faccia destra della gran falce del cervello, come l'esame istologico ha dimostrato;

II. Che l'aggravarsi dei sintomi, cioè a dire il transformarsi dell'indebolimento degli arti di sinistra in paresi, la comparsa della paresi nell'arto inferiore destro e il trasformarsi dell'epilessia bravais — iacksoniana da parziale in generale con coinvolgimento della psiche, era dovuto, alla massa neoformata di tubercoli, di data recentissima, come l'esame istologico ebbe a dimostrare, aderente alla faccia destra della gran falce del cervello e comprimente perciò, ambedue i lobuli paracentrali, la porzione superiore delle due scissure di Rolando, nonchè delle due circonvoluzioni frontali e parietali ascendenti dei due emisferi ;

III. Che la trasformazione della paresi e della anestesia degli arti di sinistra e dell'arto inferiore di destra in paralisi generale spastica ed in anestesia generale dei quattro arti, nonchè la paralisi retto — 'vescicale, la quasi completa cecità e sordità a sinistra e l'aggravarsi degli accessi bravais — iacksoniani, erano da ascriversi ; in parte alla necrosi cui era andata incontro l'ernia cerebrale ed in grandissima parte alla pachi — e lepto — meningitide

cronica delle meningi della base encefalica e di quelle involgenti tutta la midolla spinale nonchè alla mielite cronica marginale della midolla, mielite cronica più estesa posteriormente che anteriormente;

IV. Che i gravissimi fenomeni di lesa psiche, per i quali nagli ultimi periodi della malattia l'estinto erasi ridotto alla completa imbecillità erano stati la risultanza: in parte, dell'enorme pressione endocranica determinata dai tumori riscontrati alla necroscopia i quali avevano apportato la loro azione deleterea sull'intiera massa encefalica; in parte, del processo necrotico dell'ernia cerebrale la quale era stata principalmente a spese della porzione parietale dell'emisfero destro; ed in grandissima parte finalmente, delle degenerazioni delle fibre radiali e tangenziali e delle fibre di associazione intracorticali e di quelle ad U, non che della degenerazione e distruzione di gran parte delle cellule piramidali della corteccia di ambedue gli amisferi.

Valletta, Settembre 1902.

BIBLIOGRAFIA

1. Roncali. Contributo allo studio delle infezioni consecutive alle fratture esposte sperimentali. Ricerche istologiche e bacteriologiche. *Il Policlinico* (S. C.), 1885.

2. Id. Intorno al sarcoma del padiglione dell'orecchio. Studio clinico e anatomo-patologico. *Archivio Italiano di Otologia, Rinologia e Laringologia*, 1897.

3. Metchnikoff. Leçons sur la pathogenie comparée de l'Inflammation. Paris, G. Masson, Editeur, 1892.

4. Kinschensky. Experimentelle Untersuchungen uber den Enfluss der Laparotomie auf die Buchfelltuberkulose der Thire. *Centralblatt für allg. Pathologie und Path. Anatomie*, 1883.

5. Stchegoleff. Recherches expérimentales sur l'influence de la laparotomie sur la péritonite tuberculeuse. *Archives de Médecine expérimentale*, 1894.

6. Nannotti e Baciocchi. Sugli effetti della laparotomia nelle peritoniti tubercolari, Pisa, 1895.

7. Bumm. Ueber die Heilungsvorgange nach dem Bauchsnitt bei bacillare Bauchfelltuberkulose. *Sitzungsberiche d. Wurzburger physikal. Méd. Gesell.*, 1892.

8. BURCI. Contributo allo studio dei vantaggi della laparotomia nella peritonite cronica fibrosa, 1896.

9. MARGARUCCI, Della Tubercolosi intestinale e del suo trattamento chirurgico. Studio sperimentale e clinico. *Il Policlinico* (S. C.), 1898.

10. BIAGI. Sulla carie secca della spalla. *Archivio ed Atti della Società Italiana di Chirurgica*, 1901.

11. BARBACCI. *Il Policlinico* (*Supplemento settimanale*); 1901.

12. RONCALI. V. N. 2.

13. BOUCHARD. Traité de Pathologie générale. ARMAND RUFFER, Sur les parasites des tumeurs épithéliales malignes (II), Paris, G. Masson, Editeur, 1896.

14. DIAMARE. Ueber entozoische tuberkulose Neubildungen. *Cenbralbtatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 1897.

15. EBSTEIN e NICOLAJER. Beitrag zur Lehre von der zooparasitaren Tuberculose. VIRCHOW'S, *Archiv*, 1889.

16. MINGAZZINI PIO. Nuove ricerche sulle cisti degli elminti. *Archives de Parasitologie* (III), 1900.

17. DAVAINE. Traité des Entozoaires, Paris, 1877.

18. DEWITZ. Die Eingeweidewurmer der Haussangetiere, Berlin, Hear Bibliothek, 1892.

19. MINGAZZINI PIO. Ricerche sul parassitismo. *Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia Normale della R. Università di Roma ed in altri Laboratori Biologici*, 1893.

ID. Nuove ricerche sul parassitismo. *Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Università di Roma ed in altri Laboratori Biologici*, 1896.

ID. Ricerche sulle cisti degli elminti. *Archives de Parasitologie*, (I), 1898.

ID. Nuove ricerche sulle cisti degli elminti. *Archives de Parasitologie*, (III), 1900.

20. FAUSSEK. Ueber den Parasitismus der Anodonta. Larin in der Fish. *Biologisches Centralblatt*, 1900.

21. METCHNIKOFF. V. N° 3.

22. SOUDAKEWITCH. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892.

23. MINGAZZINI PIO. Nuove ricerche sul parassitismo ecc. 1896.

24. ID. V. N. 23.

25. BISWANGER. Ueber die Beziehungen der sog. motorisch. Rindengom, etc. *Archiv für Psychiatrie*, 1881.

26. MONAKOW. Beitrag zur Localisation von Hirnrinden tumoren. *Archiv für Psychiatrie*, 1881.

27. AMFIMOW E BLUMENU. Riferito nel *Neurologisches Centralblatt*, 1889.

28. JACOBSON e JAMONE. Ueber die Anatomischen Veranderungen des Centralnervensystems bei Tumoren der hinteren Schaletgrube. *Berlin, Gesellschaft f. Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 1895.

29. RAYMOND. *Société Médicale des Hôpitaux*, 1892.

Id. Contribution à l'étude des tumeurs du cerveau, etc. *Archives de Neurologie*, 1893.

30. Dinkler. Ein Fall von Hydrocephalus und Hirntumor. *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde*, 1895.

31. Giannelli. Gli effetti diretti e indiretti dei neoplasmi encefalici sulle funzioni mentali. *Il Policlinico* (S. M.), 1897.

32. Schupfer. Sui tumori del corpo calloso e del Corno d'Ammone. *Rivista sperimentale di Freniatria e di Medicina legale delle malattie mentali*, 1899.

33. Numeyer. Die Histologischen Veranderungen der Grosshirnrinde bei localem Druk. *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde*, 1876.

34. Roncali. Sopra la compressibilità dell' Encefalo. Studi Sperimentali Anatomo-patologici e Clinici. — Roma, Società Editrice Dante Alighieri, 1898.

35. Kahler. Citato da Numeyer in die Histologischen, etc., 1896.

36. Rosenbach. Citato da Numeyer in die Histologischen, etc., 1896.

37. Roncali. V. N. 34.

38. Murri. Cerebeller degeneration due to intestinal intoxication. Clinical lecture delivered at the Medical Departement of the University of Bologna. *International Clinics* (III). *Eleventh Series*, 1901.

39. Gawers and Taylor. A Manual of Disease of the Nervous System. Third Edition (I). Diseases of the Nerves and Spinal Cord. London, J. and. A. Churchill, 1899.

40. Id., V. N. 39.

41. Montenovesi. In Roncali. Etat actuel de la Chirurgie de l'Encéphale en Italie. — M. Chipault. Etat actuel de la Chirurgie Nerveuse, (III), Paris, J. Rueff, Editeur, 1903.

42. De Paoli. In Roncali. Relazione sopra alcuni casi di chirurgia dell'-encefalo al XII° Congresso dei Chirurghi italiani. *Atti del XII° Congresso della Società italiana di Chirurgia*, 1898.

43. Spadaro. Un caso di sarcoma del cervello. Craniotomia. Guarigione, Avellino, 1897.

44. Sciamanna e Mazzoni. Glioma cerebrale. Trapanazione. *Bollettino della Reale Accademia Medica di Roma*, 1885.

45. Postempski. Tumore cerebrale. Estirpazione. Guarigione, *Bollettino della Reale Accademia Medica di Roma*, 1893.

46. Giordano. Contributo alla cura delle lesioni traumatiche ed alla trapanazione del cranio. *Gazetta Medica di Torino*, 1890.

47. Guldenarm e Winkler. In Chipault. Etat actuel de la Chirurgie Nerveuse. Winkler et Rotgans. *Pays-Bas*, pag. 658 (1), Paris, J. Rueff, Editeur, 1902.

48. Vermey e Winkler. In Chipault, op. cit.

49. Wayenburg e Westerman. In Chipault, op. cit.

50. Winkler e Rotgans. In Chipault, op. cit.

51. Dejerine et M. Dejerine Klumpke. Anatomie des Centres nerveux (II), Paris, J. Rueff, Editeur, 1901.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

Tavola I

Fig. 1. — Oc. 4. Obb. 7. Koristka. — Sezione del tubercolo solitario del lobo occipitale in cui si vede la distruzione della cellula gigante per disgregamento per parte dei leucociti. Nel centro vedesi una cellula completamente invasa dai leucociti e già disgregata, inferiormente e a sinistra una cellula completamente disgregata ma i cui frammenti non sono spostati. In alto e in basso si vedono altri due nidi tubercolari nei quali la distruzione della cellula gigante è più avanzata e la zona epitelioide è completamente investita dai leucociti.

Fig. 2. — Oc. 4. Obb. 3. Koristka.— Sezione dello stesso tubercolo in cui si vede colla colorazione di Van Gieson come in certi punti il connettivo ha strozzato completamente i nidi tubercolari avendoli perfettamente incapsulati. In certi punti si trova il principio del rammollimento del tubercolo per necrosi da coagulazione.

Fig. 3. — Oc. 4. Obb. 7. Koristka. — Sezione dello stesso tubercolo fatta per dimostrare la diretta trasformazione dei leucociti in cellule fisse connettivali. Nel centro specialmente si trova un tubercolo intieramente disgregato, in cui non si vedono altro che nuclei diretti in ogni senso i quali dirivano direttamente dai nuclei dei leucociti trasformati. Allato si trova una quantita notevole di leucociti già trasformati in fibra connettivale.

Fig. 4. — Oc. 4, Obb. 7. Koristka. — Sezione dello stesso tubercolo riportata per dimostrare la fase ultima della metamorfosi che nel cervello subiscono i tubercoli. In alto e in basso si vedono due cavità cinte completamente da tessuto connettivo che rappresentano due tubercoli incapsulati che poi hanno subito la necrosi da coagulazione e questi rappresentano il vero e pròprio *incapsulamento del tubercolo* avanti descritto: mentre in alto a destra, e in basso tanto a destra quanto a sinistra, si vedono quattro impronte di tubercoli i quali hanno subito previo disgregamento dei loro elementi specifici la vera e propria *sostituzione fibrosa del tubercolo*. La disgregazione rappresentata nella fig. 1 e la metamorfosi dei leucociti rappresentata nella fig. 2, sono le due fasi che precedono la fibrificazione rappresentata nella fig. 4.

Tavola II

Fig. 5. — Oc. 1. Obb. 1. Koristka. — Sezione di corteccia del lobo occipitale destro colorata col metodo di Pal in cui si vede la totale distruzione delle fibre radiali e tangenziali e la distruzione anche delle cellule gangliari. La degenerazione delle fibre corte di associazione è anche molto notevole. La pia meninge è in preda a una cronica leptomeningitide.

Fig. 6. — Oc. 1. Obb. 1. Koristka. — Sezione di corteccia del lobo occipitale sinistro colorata col metodo di Pal in cui si vede la completa distruzione delle fibre radiali e tangenziali e la notevole distruzione delle cellule piramidali. La degenerazione delle fibre corte di associazione e delle fibre ad U è anche molto notevole, ma è meno spiccata che nel lobo occipitale destro. Anche qui le pie meningi sono in preda a manifestissima leptomeningitide cronica.

DIAGNOSTIC DES BACTÉRIES

PAR LEURS FONCTIONS BIO-CHIMIQUES

PAR

Léon GRIMBERT
Docteur en médecine, Docteur ès-sciences
Professeur agrégé à l'École supérieure de Pharmacie de Paris
Pharmacien des Hôpitaux

> « Chaque fois que la médecine a grandi, elle s'est rapprochée par son esprit et ses méthodes des sciences d'analyse. »
>
> L. PASTEUR.

INTRODUCTION

Le but que je me propose est de montrer tout le parti qu'on peut tirer de l'étude des fonctions bio-chimiques des Bactéries pour la détermination de l'espèce.

Je ne veux pas dire que la connaissance des produits formés par les microbes dans les milieux où ils vivent peut suffire seule à établir un diagnostic. Nous savons tous trop bien que la formule chimique d'une fermentation n'est pas une équation aussi simple qu'on pourrait le croire ; qu'un facteur important intervient qui est l'être vivant lui-même soumis à toutes les influences du milieu où il vit, milieu qu'il transforme incessamment pendant toute la durée de son existence. Mais ces influences n'apportent à la marche générale du phénomène que des modifications secondaires ne lui ôtant rien de sa signification générale, et l'expérience a montré que les qualités fermentatives d'un microbe sont moins sujettes à variation que sa forme, sa motilité ou sa virulence. De plus, la facilité que l'on a de le faire vivre dans un grand nombre de milieux permet d'étendre très loin le champ des investigations et de varier à l'infini les éléments de diagnostic.

C'est ce que démontreront, suffisamment, je l'espère, les documents personnels que j'ai rassemblés ici. En les exposant, j'insisterai surtout sur la technique employée, car, pour tirer de l'étude

chimique des microbes, tout le bénéfice qu'on est en droit d'en obtenir, il est indispensable que chaque opérateur soit certain, en répétant une expérience, de se trouver dans les mêmes conditions que celui qui l'a décrite; aussi serait-il à souhaiter qu'une entente s'établisse entre les bactériologistes en vue d'une unification pratique des méthodes de culture.

Ce vœu, je l'ai déjà formulé au Congrès de Médecine de 1900, après en avoir développé l'idée dans les *Archives de Parasitologie* (1) je demanderai tout à l'heure la permission de revenir encore une fois sur ce sujet.

Je diviserai le présent travail en quatre parties :

Dans la première j'étudierai les milieux de culture et les moyens d'arriver à leur unification.

Dans la seconde, je donnerai le plan d'une marche méthodique permettant de passer en revue les principales fonctions bio-chimiques des Bactéries ;

Dans la troisième je décrirai les procédés d'analyse et de dosage des produits bactériens formés dans les cultures.

Dans la quatrième enfin, j'exposerai les résultats que m'ont donnés les méthodes précédentes dans l'étude de quelques espèces bactériennes.

PREMIÈRE PARTIE

DES MILIEUX DE CULTURE ET DE LEUR UNIFICATION

Du diagnostic des Bactéries (2)

« Quiconque, ayant isolé un microbe, a voulu l'identifier avec une des nombreuses espèces décrites, a dû certainement être frappé de la confusion qui existe dans la description de ces espèces et regretter plus d'une fois l'absence de ces tableaux dichotomiques qui permettent aux botanistes de mettre le doigt, presque sans effort, sur le nom de la plante qu'ils ont récoltée.

La plupart des traités qui s'occupent du diagnostic des Bactéries ne sont que des catalogues où celles-ci viennent se ranger par

(1) 1898, I, n° 2, p. 191.

(2) *Archives de Parasitologie*, I, p. 191, 1898.

ordre alphabétique, sous le nom que leur a imposé le bactériologiste qui les a découvertes ou qui a cru les découvrir. La description de leurs caractères, ne suivant aucun plan arrêté, offre les variations les plus déconcertantes. Tantôt l'auteur s'attache à la morphologie, qu'il décrit avec complaisance, laissant dans l'ombre certaines particularités biologiques qu'il eut été intéressant de connaître. Tantôt, l'aspect des cultures retient seul son attention, il note avec force détails les nuances les plus fugitives d'un tube de bouillon qui se trouble ; il nous fait assister à toutes les phases par où passe une colonie sur gélatine en voie de liquéfaction, mais sans nous dire jamais si le Bacille en question attaque l'albumine ou les hydrates de carbone. »

« D'autre part, quand on vient à répéter une expérience décrite, il n'est pas rare d'obtenir des résultats en désaccord avec ceux de l'auteur, tout simplement parce que, faute de détails précis, on n'a pu se placer dans des conditions d'expérience rigoureusement identiques. Aussi voit-on souvent le même organisme découvert plusieurs fois par des expérimentateurs différents et affublé par chacun d'eux d'un nom nouveau. »

« Il serait donc à souhaiter de voir une entente s'établir entre tous les bactériologistes pour adopter une marche méthodique unique dans la description des Bactéries, en ayant soin de bien spécifier les conditions des expériences. Il faudrait, dans ce *modus faciendi*, donner une large part à l'action chimique des microbes : fermentation des hydrates de carbone ou des alcools polyatomiques, formation d'indol, réduction des nitrates, production de diastases diverses, etc. Alors seulement, en possession de ces données, arrivera-t-on peut-être à établir une classification naturelle des Bactéries basée sur leurs propriétés biologiques.

» La difficulté sera de n'accorder de l'importance qu'aux caractères les plus constants et qui sembleront résister davantage à l'influence des changements de milieu. »

C'est là le point délicat.

« Une semence, dit Duclaux (1), qu'on introduit dans un liquide fermentescible, apporte des qualités héréditaires, dépendant du milieu dont elle provient, du temps qu'elle y a passé, du degré

(1) Duclaux, *Traité de microbiologie*, I, p. 235.

d'acclimatation qu'elle a subi. Dans son nouveau milieu, elle rencontre des conditions différentes de celles de son milieu d'origine, qui accentuent ou corrigent ses prédispositions héréditaires. Bien plus, elle modifie le milieu à mesure qu'elle y vit, de sorte que les cellules qui s'y forment au bout de quelques heures ou de quelques jours apportent elles-mêmes des habitudes et des prédispositions différentes de celles de leurs aînées, et pour tout dire en un mot, dès qu'il est démontré que le protoplasma d'une cellule n'a pas des propriétés immuables, nous sommes obligés, à raison de l'impressionnabilité que nous lui avons découverte, de le supposer en état de mutation continue. »

Faut-il en conclure qu'un microbe étant un être en état de perpétuel devenir, il est impossible de le caractériser par ses propriétés fermentatives? A ce compte il faudrait renoncer aussi à l'étude de sa morphologie et de sa virulence, ou plus simplement encore renoncer à le caractériser sous prétexte que ses propriétés d'aujourd'hui seront modifiées demain.

Faisons toutes les réserves que nous voudrons sur la fixité de l'espèce, reconnaissons même avec Duclaux qu'autour du microbe type « se placent et se rangent une foule d'autres êtres qu'on peut faire dériver du premier en mettant en jeu des actions physiques ou physiologiques, et dont quelques-uns n'ont plus aucune des propriétés qui ont servi de définition, tout en conservant avec le premier le lien d'une filiation régulière, et pouvant en être dérivé à tout instant par des méthodes connues. » Mais, pratiquement, et tant que nous ne disposerons pas d'autres moyens, il faudra bien avoir recours à l'observation de ses propriétés actuelles pour lui assigner un état civil.

Et puisque ces propriétés biologiques peuvent se modifier avec les conditions d'ensemencement, ce sont précisément ces conditions d'ensemencement que je voudrais voir préciser et fixer. Elles deviendraient ainsi le réactif de l'espèce.

Une Bactérie qui change de fonctions d'une façon durable est un être nouveau qui a droit à un nom nouveau ; peu nous importe qu'il s'agisse ici d'espèce, de race, de variété ou de sous-variété.

« Les différentes armes qui entrent dans la composition d'un corps d'armée se distinguent aussi bien par leurs fonctions que par leurs costumes, et quand des mutations viennent à se pro-

duire, quand un fantassin, par exemple, passe dans l'artillerie, continuerez-vous à le considérer comme fantassin ? De même en microbie, peu nous importe que l'artilleur d'aujourd'hui ait été fantassin hier pour devenir un jour dragon ou hussard : sa fonction *actuelle* est de tirer le canon, nous n'avons pas besoin d'en savoir davantage pour le classer. »

Lorsque nous aurons, avec discernement, déterminé les principales fonctions biologiques d'un microbe, donnons-lui un nom que nous appliquerons à tous ceux qui, dans des conditions identiques, offriront les mêmes réactions.

Si une autre Bactérie se présente avec seulement quelques-unes des propriétés attribuées au type primitif, cherchons d'abord à lui faire recouvrer les fonctions qui lui font défaut et si nous n'y arrivons pas, donnons-lui sans hésiter un nom nouveau. Mieux vaut, à mon avis, multiplier les dénominations que de vouloir faire entrer dans le même cadre une multitude de microbes qui n'ont souvent de communs que des caractères secondaires sans importance.

Variation des fonctions des microbes.

Le premier écueil auquel on se heurte quand on se propose de baser le diagnostic d'une espèce microbienne sur ses fonctions fermentatives, c'est, nous venons de le dire, l'influence que l'âge, l'origine et l'éducation de la semence exercent sur la marche de la fermentation et sur la nature des produits formés.

Le *Bacillus orthobutylicus* (1), que j'ai étudié spécialement dans ce but, va nous donner la mesure de cette influence.

C'est un microbe anaérobie du sol que j'ai isolé et décrit pour la première fois en 1893.

Il attaque un grand nombre d'hydrates de carbone en donnant de l'alcool butylique normal, de l'acide acétique, de l'acide butyrique normal avec dégagement d'acide carbonique et d'hydrogène.

Je laisse de côté les variations que l'on observe dans les proportions de ces différents corps au cours d'une fermentation, ainsi que les perturbations apportées par la réaction du milieu, pour m'arrêter un instant sur l'influence exercée par l'âge de la semence.

(1) L. GRIMBERT, *Fermentation anaérobie produite par le* Bacillus orthobutylicus. Thèse de doctorat ès-sciences, Paris, 1893.

Si l'on ensemence une solution de glycose avec des cultures de *Bacillus orthobutylicus* de plus en plus âgées, et qu'on examine les produits formés au bout du même temps, on constate que les semences jeunes donnent lieu à une production d'alcool butylique supérieure à celle qu'on obtient avec des semences plus âgées et déjà sporulées. Par contre, la production d'acide butyrique suit une marche inverse. Ce sont les semences les plus âgées qui en produisent davantage. C'est pour éliminer toute cause d'erreur provenant de ce fait qu'il est indispensable, quand on veut comparer entre eux divers ferments, de prendre comme semence des cultures de même âge.

Quant à l'influence de l'éducation de la semence, elle ressort nettement des faits suivants :

Le *Bacillus orthobutylicus* attaque bien l'inuline mais il ne donne avec cet hydrate de carbone qu'une quantité très faible d'alcool butylique.

Faisons-lui subir sur cette inuline réfractaire à la production d'alcool, une série de passages espacés de 8 jours en 8 jours, et ensemençons-le alors sur glucose.

Dans ce dernier milieu, le *B. orthobutylicus* va donner plus de 20 grammes d'alcool butylique normal pour 100 grammes de sucre consommé au lieu d'une moyenne de 10 grammes !

Mais si l'on fait subir à ce Bacille, ainsi modifié dans ses propriétés fermentatives, une nouvelle série de passages, cette fois sur glucose, il reprendra bientôt ses qualités primitives ; c'est-à-dire qu'ensemencé dans une solution de glucose il ne produira plus que 9 °/₀ d'alcool butylique. Mais, chose curieuse, il aura acquis du même coup la faculté de faire produire à l'inuline des quantités d'alcool butylique considérables (19,20 °/₀ au lieu de 3,60).

Ce n'est pas le lieu de rechercher la cause de cette exaltation de fonction fermentative dont le mécanisme n'est pas sans analogie avec celui de l'exaltation de virulence chez les microbes pathogènes, retenons seulement de ces faits que les variations introduites dans l'équation de la fermentation sous l'influence de l'éducation ou de l'âge de la semence, quoique considérables, n'ont porté que sur des rapports de quantité entre les divers produits formés sans modifier sensiblement la nature de ces produits. Avec le Bacille pyocyanique nous allons assister à des modifications plus

profondes aboutissant à la création artificielle de véritables races. Les faits qui vont suivre sont empruntés au remarquable travail de Gessard (1) sur ce sujet.

On sait que le Bacille pyocyanique ensemencé dans du bouillon peptonisé ordinaire, lui communique une teinte verdâtre, due au mélange de deux pigments, dont l'un, de couleur bleue, la pyocyanine, peut être séparé au moyen du chloroforme ; l'autre apparaît alors avec sa teinte verte fluorescente.

Par l'emploi de certains milieux, on peut faire produire à volonté au Bacille pyocyanique l'un ou l'autre de ces pigments. Dans la peptone pure, le Bacille ne produit que de la pyocyanine, sans trace de fluorescence ; dans l'albumine d'œuf, on n'obtient que la teinte verte fluorescente, sans trace de pyocyanine. Et, pour prouver que la formation du pigment est bien liée à la composition chimique du milieu, il suffit d'ensemencer sur peptone le Bacille cultivé en série depuis un certain temps sur albumine, pour lui faire donner de la pyocyanine ; et inversement, le Bacille qui donne de la pyocyanine sur peptone produira du vert fluorescent quand il sera reporté sur albumine.

Par des artifices de culture, Gessard est arrivé à créer de véritables races de Bacilles pyocyaniques possédant leur individualité propre, mais pouvant faire retour au type primitif quand on les place dans certaines conditions.

Désignons par A la race du Bacille normal, qui donne dans le bouillon de la fluorescence et de la pyocyanine. Cultivé exclusivement sur albumine pendant une année entière, ce bacille reporté sur bouillon, ne donne plus de fluorescence « comme s'il était alors devenu par habitude plus exigeant sur l'état où doivent lui être offerts les éléments de la production de la pyocyanine. » C'est une nouvelle race, que nous désignerons par la lettre P.

D'autre part, le Bacille de la race primitive A, chauffé pendant 5 minutes à 57°, perd la propriété de former de la pyocyanine et ne donne plus, dans le bouillon, que de la fluorescence ; c'est de la race F.

La race P, celle qui donne exclusivement de la pyocyanine, chauffée également pendant 5 minutes à 57°, puis ensemencée dans

(1) Gessard, Des races du Bacille pyocyanique. *Annales de l'Institut Pasteur*, V, p. 65, 1891.

du bouillon, s'y développe, mais ne donne naissance à aucun pigment : c'est la race S, que rien ne distingue plus des nombreuses espèces saprophytes sans pigment.

Ainsi quatre races, très faciles à distinguer, peuvent être créées artificiellement en partant du Bacille pyocyanique. Mais, et c'est sur ce point que j'insiste, ces quatre races si distinctes par leurs caractères biologiques n'appartiennent pas moins à la même espèce, et pour le démontrer il suffit, avec Gessard, de les ensemencer sur le milieu spécial qu'il désigne sous le nom de gélose-peptone glycérinée, milieu dans lequel elles produiront toutes, indistinctement, de la pyocyanine, fonction caractéristique de l'espèce.

Le milieu gélose-peptone glycérinée devient donc réactif du Bacille pyocyanique. Faute de le connaître, un bactériologiste n'hésitera pas à faire quatre espèces distinctes des quatre races dont nous venons de parler parce qu'il n'aura porté son attention que sur l'aspect des cultures en bouillon.

Et ce que je viens de dire du Bacille pyocyanique peut sans aucun doute s'appliquer à un grand nombre de Bactéries. Il doit y avoir pour chacune d'elles un aliment de choix, un milieu particulièrement favorable à l'exaltation de leurs fonctions.

Malheureusement, on ne peut demander aux bactériologistes de répéter pour chaque espèce ce que Raulin (1) a fait pour l'*Aspergillus niger* dans ce travail classique que Duclaux appelle une des plus belles œuvres du commencement de la bactériologie.

Les expériences minutieuses de ce savant nous montrent le trouble profond qu'apporte dans les fonctions de nutrition de l'*Aspergillus* l'absence de quelques centigrammes de sel de zinc ou de sel de fer ; la récolte de ce fait diminue d'un dixième. Si l'on supprime l'acide phosphorique, elle tombe au 1/200e de la normale. Bien plus, la présence dans la liqueur d'une trace d'un sel d'argent, impossible à révéler avec nos réactifs les plus sensibles, le simple contact, par exemple, d'un vase d'argent, suffisent pour empêcher toute végétation.

Dans le liquide de Raulin, la dose de chaque élément n'a été établie qu'à la suite d'essais nombreux, basés sur des dosages méthodiques, et dans le but d'obtenir le maximum de rendement,

(1) Raulin, *Annales des sciences naturelles*, *Botanique*, 1870.

de sorte qu'on ne peut toucher à un seul chiffre sans qu'aussitôt la plante ne ressente les effets de cette modification.

Ce liquide est le type des milieux de culture artificiels, mais composé pour l'*Aspergillus* il ne peut servir que pour l'*Aspergillus*, ou pour quelques Mucédinées voisines; et si je le cite, c'est moins pour le proposer comme modèle que comme exemple.

Il est évident qu'un milieu de culture, si complexe qu'il soit, ne peut avoir la prétention de convenir également à toutes les Bactéries connues ou inconnues et que le but d'un bactériologiste, dès qu'il a isolé une espèce intéressante, doit être de rechercher les matériaux qui se prêtent le mieux à l'exaltation de certaines fonctions de son microbe.

Aussi voyons-nous dès maintenant apparaître la nécessité d'avoir recours à trois sortes de milieux de culture :

1° Les milieux usuels, destinés à entretenir vivantes les espèces isolées. La manière dont celles-ci s'y comportent peut déjà fournir d'utiles renseignements ;

2° Les milieux fermentescibles dont la composition chimique doit être connue ;

3° Les milieux spécifiques, véritables réactifs biologiques destinés soit à favoriser le développement d'un microbe, soit à mettre en évidence quelques-unes de ses propriétés bio-chimiques.

C'est ici que s'impose la question de l'unification des méthodes de culture, si l'on veut que toutes les recherches bactériologiques soient comparables dans les divers laboratoires.

Il semble au premier abord que rien ne soit plus facile que d'établir une fois pour toutes la composition des milieux usuels et les règles qui doivent présider à leur préparation. Nous allons voir que, même dans les préparations les plus simples, on se heurte à chaque pas à des questions d'ordre chimique qu'il faut commencer par résoudre si l'on veut arriver à un résultat pratique.

L'entente que je préconise entre les laboratoires de bactériologie existe déjà depuis un certain nombre d'années en Amérique.

En 1898, en même temps que paraissait dans les *Archives de Parasitologie* mon article sur l'Unification des méthodes de Culture, le Comité de l'*American Public Health Association* publiait sur la même question un rapport intitulé : *Procedures recommended for the study of Bacteria, with especial*

reference to greater uniformity in the description and differentiation of species (1).

Ce rapport, réclamé en 1895 par le Congrès des bactériologistes des Etats-Unis et du Canada réunis à Montréal, fut élaboré par une commission de 8 membres composée de MM. J. George Adami, A.C. Abbott, T.M. Cheesman, George W. Fuller, W. T. Sedgwick, Charles Smart, Theobald Smith et W. H. Welch. Les conclusions en furent adoptées dans la réunion de l'Association américaine, tenue à Philadelphie en 1897.

Dans la marche générale proposée par le Comité américain et que nous publierons plus loin (2), l'étude des fonctions chimiques des bactéries tient une place un peu trop effacée. Par contre la partie qui traite de la préparation des milieux de culture contient d'utiles renseignements qu'on consultera avec fruit. Malheureusement son développement est tel qu'il m'est impossible de lui donner ici la place qu'elle mérite, n'ayant pas l'intention d'écrire un manuel de technique bactériologique.

Des milieux de culture usuels

Pour les milieux usuels de la première catégorie une unification idéale est presque impossible à réaliser à cause des substances complexes qui entrent dans leur composition et dont la connaissance exacte échappe à l'analyse la plus minutieuse.

La constitution chimique d'un bouillon, d'une peptone, d'une gélatine, encore qu'elle nous soit à peu près inconnue, varie d'un échantillon à l'autre, et il ne viendra à l'esprit de personne d'exiger dans leur composition une identité impossible à réaliser. Mais on peut au moins s'entendre sur la manière de préparer ces milieux et ce serait déjà un grand pas de fait.

Pour atteindre ce but, il faudrait que des expériences précises fussent entreprises dans les laboratoires sur la valeur des méthodes en usage, sur la raison d'être de telle ou telle pratique imposée par la routine, sur le choix des matériaux à employer.

Et si ce n'était pas trop exiger, je voudrais voir le bactériologiste apporter lui-même tous ses soins à cette partie de la technique au lieu de l'abandonner le plus souvent à son garçon de laboratoire.

Il suffit d'ailleurs de jeter un coup d'œil sur les traités ou manuels de technique bactériologique pour être édifié sur la manière dont se préparent les milieux de culture. L'étude du bouillon de viande nous fournira quelques exemples.

(1) Concord. N. H. The Rumford Press, 1898.

(2) Appendice, page 302.

BOUILLON. — Le bouillon tel qu'on l'emploie dans les laboratoires est bien le type de ces milieux qui défient toute analyse chimique. Ce n'est pas qu'une telle recherche n'ait déjà tenté bien des chimistes, et la liste des substances définies qu'on y a signalée est déjà fort longue.

Liebig, à côté de sels minéraux constitués surtout par du chlorure et du phosphate de potassium et du phosphate de magnésium, y décèle la *créatine*, la *créatinine*, l'acide *sarcolactique* ; Wislicenus, l'acide *éthylidénolactique;* Strecker, la *sarcine*; Scherer, la *xanthine* et l'*inosite ;* Guareschi et Mosso, la *méthylhydanthoïne* qui provient peut-être simplement d'une hydratation de la créatinine. Puis c'est une série de ptomaïnes décrites par A. Gautier, la *xanthocréatinine*, la *chrysocréatinine*, l'*amphicréatine*, la *pseudoxanthine* et deux autres bases non dénommées. Et je ne parle parle ni du glucose, ni des dextrines, ni de l'urée, ni de l'acide urique, ni des peptones signalés par d'autres auteurs.

On conçoit que l'analyse méthodique d'un tel milieu ne puisse donner des résultats bien pratiques. Elle a été cependant tentée par Bouvault (1) dans le but précisément d'étudier les modifications que pouvait faire subir au bouillon la culture du bacille de la tuberculose aviaire. Le résultat n'a pas répondu au travail considérable qu'une telle recherche avait nécessité.

Malgré sa composition si complexe et si variable, on continuera encore longtemps à faire usage du bouillon, parce que, tel qu'il est, il constitue un excellent milieu de culture dans lequel le microbe sait faire le choix des éléments qui lui conviennent, mais on peut dire qu'il y a autant de manières de le préparer qu'il y a de laboratoires.

« Les uns, hantés sans doute par le souvenir du pot-au-feu familial, semblent avoir emprunté ses recettes à la *Cuisinière bourgeoise*. La viande est mise dans une marmite avec de l'eau que l'on maintient en ébullition pendant cinq heures, en ayant soin d'écumer le pot de temps en temps. Après quoi il faut attendre vingt-quatre heures pour donner à la graisse le temps de

(1) BOUVAULT, *Études chimiques du Bacille de la tuberculose aviaire.* Thèse de doctorat en médecine. Paris, 1892.

(2) *Archives de Parasitologie*, Loco citato.

se figer. On neutralise, on porte de nouveau à l'ébullition, on filtre, on sale et on stérilise.

« D'autres cuisent la viande dans l'eau à 120° à l'autoclave pendant 20 minutes, mais recommandent de ne stériliser qu'à 110.

« Puis viennent les partisans de la macération à froid. Cette macération, dans certains laboratoires, est suivie, après filtration, d'un passage à l'autoclave à 120° pendant une demi-heure (sans doute pour coaguler l'albumine !) on filtre, on alcalinise et on reporte le liquide une seconde fois à l'autoclave pendant un quart d'heure, cette fois pour précipiter les phosphates terreux. Puis nouveau repos de 24 heures, deuxième filtration et stérilisation définitive. Les auteurs de cette méthode ont soin d'ajouter qu'ainsi préparé, le bouillon est sujet à se troubler quand on le chauffe et qu'il est nécessaire de le soumettre à des filtrations répétées.

« Est-il besoin de faire remarquer qu'aucun de ces procédés ne repose sur des données rationnelles ? Pourquoi cet abus de l'autoclave ? pourquoi ces ébullitions prolongées pendant des heures et ces repos de 24 heures en lieu frais ? Est-ce qu'une macération à froid n'est pas suffisante ? Prolongez-la pendant 24 heures si vous voulez, mais déjà, au bout de 4 heures, le liquide, débarrassé de son albumine, ne contient pas moins de 10 grammes par litre de matières nutritives en solution, comme je m'en suis assuré, et si vous ajoutez, comme on le fait généralement, 10 gr. de peptone par litre, croyez-vous que notre milieu ne soit pas suffisamment nutritif ? La macération à froid a de plus l'avantage d'éliminer en partie les matières grasses qui rendent la clarification du bouillon si difficile ; et l'on sait que le principal souci d'un opérateur est d'obtenir un bouillon d'une limpidité parfaite. Or, il semble qu'on se soit ingénié à prendre le contre-pied de ce qu'il faut faire pour atteindre ce but.

« D'abord, les longues ébullitions ou les cuissons à l'autoclave, qui finissent par émulsionner et saponifier les corps gras, d'où trouble persistant, très difficile à vaincre malgré les filtrations répétées sur filtres mouillés ; ensuite, recommandation de laisser refroidir avec soin le bouillon après qu'on en a précipité les sels terreux par le double emploi de la neutralisation et de l'autoclave. C'est là qu'est la faute, car le trouble qui se produit à l'ébullition et qu'on attribue à la précipitation de sels organiques de chaux,

disparaît par le refroidissement pour reparaître quand on élève la température. Il faut donc filtrer la liqueur bouillante si l'on veut se débarrasser de la cause du trouble. »

Les modes opératoires en usage dans certains laboratoires pour la préparation du bouillon sont à réformer entièrement et surtout à simplifier. Pour ma part je propose le *modus operandi* suivant employé à l'Institut Pasteur pour la préparation du bouillon simple :

1° Macération de la viande hachée dans le double de son poids d'eau froide, pendant un temps (1) que l'on pourrait déterminer et fixer expérimentalement.

2° Passer avec expression et porter le liquide à l'ébullition pendant *quelques minutes*. Les matières albuminoïdes sont ainsi coagulées entièrement.

3° Filtrer sur un filtre mouillé pour se débarrasser des traces de graisse entraînées mécaniquement. Le liquide ainsi filtré est à peine coloré et acide.

4° Alcaliniser légèrement, mais franchement, avec de la soude diluée. Il se produit un trouble dû à la précipitation des phosphates terreux.

5° Porter le liquide alcalinisé à l'autoclave à 120° pendant un quart d'heure ; puis filtrer le liquide encore chaud, pour le débarrasser des sels organiques de chaux.

6° Le répartir dans des récipients *ad hoc* (tubes à essai, ballons, etc.) et stériliser à 120°.

Le bouillon ainsi préparé reste limpide et ne doit pas se troubler par la chaleur. Quand cet accident vient à se produire c'est qu'on n'a pas assez alcalinisé.

L'alcalinité à donner au bouillon pourrait être déterminée par des expériences préalables et fixée une fois pour toutes (2).

Malheureusement, en supposant tranchée la question de tech-

(1) 18 à 24 heures, d'après le Comité américain.

(2) Le Comité américain prescrit de neutraliser le bouillon et tous les milieux de culture en général, en se servant de phénol-phtaléine comme indicateur et d'ajouter ensuite 1cc5 de soude normale par 100cc pour lui donner le degré d'alcalinité convenable, ou plutôt de l'additionner d'une quantité de soude telle qu'après stérilisation, il soit nécessaire d'employer 1cc5 d'acide chlorhydrique normal par 100cc pour le neutraliser.

nique, nous avons encore à compter avec la question de la viande employée.

» Le tissu musculaire n'est pas, en effet, *post mortem*, de la matière inerte comme l'albumine desséchée ; c'est au contraire un milieu en état d'évolution constante, soumis à des mutations d'ordre intérieur, par suite de la persistance plus ou moins longue de la vie cellulaire, et à des mutations d'ordre extérieur quand les microbes y sont intervenus.

» Un même échantillon de viande fournira donc, suivant son état de fraîcheur ou de faisandé, des bouillons absolument différents : ces différences sont déjà révélées par les agents chimiques, à plus forte raison seront-elles perçues et indiquées par les micro-organismes (1). » C'est ce que prouvent les faits suivants que nous empruntons au travail si intéressant de Péré sur les fonctions biologiques du Bacille typhique.

D'après Brieger (2), le Bacille typhique alcalinisait le bouillon neutralisé ; pour Petrushky, il le rendait acide.

Afin de trancher la question, Peré prit un échantillon de viande de Bœuf ; la viande hachée fut abandonnée à la température de 10° à 13° et servit à faire des bouillons qui, préparés à diverses époques et par les mêmes procédés, possédaient une acidité initiale que les chiffres suivants expriment en acide oxalique pour 1000 parties :

1°	Viande	de 4 heures.	— Acidité	du bouillon	1,54
2°	»	de 24 heures.	»	»	1,95
3°	»	de 40 heures.	»	» ...	1,48
4°	»	de 48 heures.	»	»	0,97

Neutralisés exactement et ensemencés avec du Bacille typhique, ils ont donné, après 48 heures de culture, les résultats suivants : L'alcalinité est exprimée en soude :

Bouillon	N° 1	0,64	Acide.
»	N° 2	0,25	Acide.
»	N° 3	0,17	Alcalin.
»	N° 4	0,40	Alcalin.

Les affirmations de Brieger et de Petrushky, bien que diamétra-

(1) Péré, Contribution à l'étude du *B. coli* et du B. typhique. *Annales de l'Institut Pasteur*, VII, p. 512, 1892.

(2) Brieger, *Microbes, ptomaïnes, maladies*, p. 191.

lement opposées, sont donc exactes toutes les deux. Tout dépend des conditions d'expérience qui se trouvent insuffisamment précisées quand on dit seulement qu'on fait la culture dans du bouillon.

La présence de la glycose dans la chair musculaire est la principale cause de ces différences qui déroutent parfois l'observateur. Un microbe alcalinisant ordinairement le bouillon mais doué de la propriété d'attaquer la glycose, peut produire le premier jour une réaction acide due à la fermentation de la matière sucrée ; puis cette réaction fait place à une réaction alcaline quand le sucre a été entièrement consommé. Le même microbe peut donner d'emblée avec certains bouillons soit une réaction acide soit une réaction alcaline suivant que la viande qui a servi à préparer le bouillon est plus ou moins fraîche, c'est-à-dire suivant que la glycose a eu plus ou moins le temps d'être détruit.

C'est à la même cause qu'il faut attribuer la propriété que présentent certaines Bactéries de provoquer un dégagement gazeux dans le bouillon, réaction à laquelle divers auteurs ont cru devoir accorder quelque importance et qui ne dépend que de la composition du milieu de culture.

Cette question de la présence de la glycose dans le bouillon peut prendre une importance considérable, par exemple quand il s'agit de préparer la toxine diphtérique, celle-ci ne se produisant pas dans les milieux même légèrement acides. Aussi certains auteurs proposent-ils de laisser vieillir la viande pour obtenir la destruction de la glycose. Spronck (1) abandonne la viande jusqu'à un commencement de putréfaction, ce qui, pour le point qui nous occupe, aurait le grave inconvénient de substituer à la glycose d'autres produits moins connus qui compliqueraient encore le problème. Martin (2) délaye la viande hachée dans le double de son poids d'eau et place le tout à l'étuve à 35° pendant 20 heures. Au bout de ce temps, la glycose a disparu et le bouillon ne donne plus d'acide quand on l'ensemence avec le Bacille diphtérique.

La formule de préparation que j'ai donnée plus haut est celle du bouillon simple. Il conviendrait peut-être de l'adopter de préférence à celle du bouillon classique qui renferme de la peptone.

(1) Spronck, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 756.
(2) L. Martin, *Annales de l'Institut Pasteur*, XII, p. 27, 1898.

Nous allons voir bientôt, en effet, que le produit vendu dans le commerce sous le nom de peptone est loin d'être constant dans sa composition et dans ses effets. Autant de fabricants, autant de peptones différentes.

On pourrait objecter que le bouillon simple n'est pas assez nutritif pour convenir à toutes les espèces. Le fait a peu d'importance par lui-même si ce bouillon, employé à titre de réactif, doit servir à établir une ligne de démarcation entre les Bactéries, d'après la manière dont elles s'y comportent.

GÉLATINE. — Introduite dans la technique bactériologique par Brefeld (1), la gélatine y a vite conquis une place importante. Comme substratum elle sert à isoler les espèces, et l'aspect qu'y prennent les colonies peut fournir d'utiles renseignements. Elle a, de plus, la propriété d'être liquéfiée sous l'action d'une diastase sécrétée par certains microbes ; et à ce seul point de vue, elle constitue un réactif précieux.

Les caractères tirés de l'aspect des colonies sont trop instables pour qu'on puisse songer à en faire une base solide de diagnostic. « L'identité des semences, dit Duclaux (2), ne suffit pas en effet à assurer l'identité des colonies. Il faut encore l'identité absolue du milieu et des conditions extérieures. Kruse a montré que, dans la préparation de la classique gélatine-peptone au bouillon de viande, l'aspect des colonies pouvait subir des variations sensibles, suivant que la gélatine avait été chauffée plus ou moins longtemps, que la viande était de telle ou telle origine, que le bouillon était plus ou moins alcalin. Le Bacille typhique, par exemple, qui, dans une gélatine un peu dure, donne des colonies compactes et à contours nets, se comporte sur une gélatine molle comme un *Proteus* et donne des colonies échevelées. » C'est un fait que, pour ma part, j'ai eu quelquefois l'occasion de vérifier.

Les remarques précédentes s'accordent avec ce que nous savons du bouillon, ce qui n'a pas lieu d'étonner puisque la gélatine nutritive n'est en somme que du bouillon gélatinisé.

Toutefois, aux causes de contingence que nous avons déjà signalées, viennent se joindre celles qui résultent de l'introduction dans

(1) BREFELD, Kulturmethoden zur Untersuchung del Pilze. *Botanische Untersuchungen über Pilze*, IV, p. 1881.

(2) DUCLAUX, *Traité de microbiologie*, p. 242, 1898.

le milieu d'un nouvel élément, je veux parler de la gélatine elle-même.

Les gélatines commerciales, outre leurs qualités marchandes, présentent de très grandes différences dans leur composition et dans la manière dont elles se comportent à l'autoclave. Les unes perdent vers 110° la propriété de faire prise par refroidissement; d'autres résistent à des températures supérieures à 120°. La réaction du milieu, surtout l'alcalinité, joue ici un rôle important.

La première chose à faire, si l'on veut établir la formule rationnelle de la préparation d'une gélatine nutritive, est d'entreprendre une série de recherches sur les gélatines du commerce, d'étudier pour chacune d'elles : 1° sa résistance aux températures élevées; 2° l'état de consistance de la gelée qu'elle fournit pour une concentration donnée, en un mot son pouvoir gélifiant; 3° son acidité qui est parfois considérable (1) et par là la quantité de soude nécessaire à sa neutralisation.

Ces données permettront de faire un choix parmi les meilleures marques connues. Une fois en possession d'une matière première irréprochable, on fixera la marche à suivre pour la préparation du milieu nutritif; on notera exactement la durée de chaque passage à l'autoclave, ainsi que la température à observer, on déterminera enfin le degré final d'alcalinité qu'elle doit conserver.

Peptone. — La peptone joue, en bactériologie, le double rôle d'aliment et de réactif. Comme aliment on la fait entrer dans la composition des bouillons, des gélatines et des géloses, ou bien on l'emploie telle quelle, en solution dans l'eau. Certains auteurs ont même conseillé de remplacer le bouillon par une solution de peptone. Ce serait parfait si la peptone était un corps défini. Malheureusement il y a peptone et peptone, et l'on peut dire que deux échantillons de provenances différentes ne sont jamais identiques. Ce sont des mélanges en proportions variables d'albumoses précipitables par le sulfate d'ammoniaque et de peptone vraie, celle-ci ne s'y rencontrant parfois qu'en très faible proportion. Les unes sont neutres, les autres acides, d'autres alcalines. Leurs

(1) A ce propos, je rappellerai que j'ai montré que la réaction du milieu d'Elsner était due surtout à l'acidité de la gélatine et non au suc de pommes de terre et qu'il était nécessaire d'opérer un titrage si l'on voulait avoir un milieu toujours semblable à lui-même (*Société de biologie*, 1896, p. 722).

[illegible] de ces variations.

[illegible] la production [illegible] sont les [illegible] maximum de [illegible] de la [illegible] par exemple, [illegible] l'échantillon [illegible] — Avec certaines marques [illegible] pourra même être [illegible]

[illegible]

L'[illegible] car il n'existe [illegible] peptone et sa [illegible]

[illegible] lequel j'ai réuni [illegible] en mettant en regard [illegible] dans les mêmes [illegible]

La lettre A [illegible] allemande ; les lettres B. C. D [illegible] Les chiffres se rapportent à 100 grammes de [illegible]

	A	B	C	D
Réaction	Alcaline	Acide	Acide	Alcaline
Eau	5.12	5.13	6.02	6.07
Cendres	[illegible]	7.06	6.25	6.38
Produits solubles dans l'alcool absolu	[illegible]	19.25	9.35	4.42
Albumoses	72.55	21.38	46.80	84.90
Peptone vraie (par différence) . . .	17.19	47.18	31.58	0,0
Réaction de l'Indol	Intense	Intense	Très faible	0

Ces résultats n'ont pas lieu de nous étonner puisque nous savons que ce n'est pas tant la nature de la substance albuminoïde peptonifiée qui influe sur la fonction indol que le procédé employé pour obtenir cette peptonification (procédé qui n'est pas divulgué par les fabricants). C'est ainsi que, d'après Péré (1), les peptones pancréatiques l'emportent de beaucoup sur les peptones pepsiques, celles-ci, à leur tour, laissant loin derrière elles les peptones chimiques.

(1) Péré, *Annales de l'Institut Pasteur*, VII, p. 512, 1892.

Dans ces conditions, il ne nous reste qu'un seul moyen pratique d'essayer une peptone, c'est de l'ensemencer dans les conditions que nous allons spécifier avec une culture pure de *Bacillus coli* type et d'observer comment elle se comporte. Toute peptone qui au bout de 48 heures ne donnerait pas la réaction nette de l'indol serait à rejeter.

Frappés de ces inconvénients, quelques laboratoires préfèrent préparer eux-mêmes leur peptone.

Voici comment opère Martin à l'Institut Pasteur :

Il prend des estomacs de porc dont il broye les tuniques muqueuses et musculaires. Il fait digérer 200 grammes de ce hachis dans un litre d'eau à 50°, additionné de 10 grammes d'acide chlorhydrique pur. Après douze heures, en maintenant la température à 50°, l'opération est généralement terminée. On chauffe le liquide à 100° pour détruire la pepsine en excès, puis on le passe sur un tampon de coton hydrophile. On chauffe la liqueur à 80° et on l'alcalinise. De gros flocons se séparent, on filtre sur papier, on chauffe à 120° et on filtre de nouveau. On répartit le liquide filtré dans les vases à culture et on stérilise.

Si l'on préfère s'adresser aux peptones du commerce il faut préparer leurs solutions en tenant compte des conditions indiquées par Péré.

Veut-on que la production d'indol soit rapide, on doit exclure tout autre aliment azoté que la peptone. *Il ne faut donc pas se servir de bouillon peptonisé*, comme on le fait trop souvent. « Dans ce cas l'apparition de l'indol se fait à une époque très variable et la réaction n'est jamais aussi intense qu'avec la peptone pure au même titre, probablement parce que le microbe ayant plusieurs sources d'azote à sa disposition ne s'attaque pas de suite aux peptones, les seules dont la destruction donne le terme indol. »

Il faut se garder d'ajouter à la solution de peptone un aliment hydrocarboné. Les sucres en effet s'opposent à la formation de l'indol.

« La causalité ou phénomène semble résider dans une modification imprimée par la présence de la matière hydrocarbonée à la nutrition intime de la cellule : le microbe, ayant à sa portée du carbone sous une forme qui lui convient, ménage son attaque de la peptone et n'aboutit pas jusqu'à l'indol. » (1).

(1) PÉRÉ, *Loco citato*.

D'autres substances, telles que les nitrates, peuvent aussi provoquer des causes d'erreurs. Le *Bacillus coli*, par exemple, cesse de donner de l'indol dans une solution de peptone nitrée, tandis que le Vibrion cholérique placé dans les mêmes conditions continue à en donner.

Le meilleur milieu consiste en une solution de peptone à 3 pour 100 dans l'eau distillée. On neutralise à l'ébullition ; on filtre et on stérilise après avoir réparti la solution dans des tubes à essai.

Ce que je viens de dire pour le bouillon, la gélatine, la peptone, s'applique également aux autres milieux usuels : gélose, pommes de terre, sérum, etc., pour lesquels il conviendrait de rechercher également un mode de préparation rationnelle.

Des milieux fermentescibles

Ces milieux, destinés à étudier l'action chimique des microbes, seront plus faciles à unifier. Si nous ne pouvons pas encore nous servir exclusivement pour leur préparation de substances chimiquement définies, au moins pouvons-nous restreindre l'usage de produits mal connus, tels que la peptone, dans des limites qui rendent leur présence pratiquement négligeable.

L'action chimique des microbes sur les milieux où ils poussent peut varier à l'infini suivant la nature de l'aliment qu'on leur offre. Un ferment qui se développe dans un milieu nutritif emprunte à ce milieu les matériaux dont il a besoin pour vivre; il en résulte la destruction du corps fermentescible dont les molécules s'organisent en de nouveaux groupements en même temps que la chaleur dégagée dans la réaction fournit l'énergie nécessaire à la fonction du ferment.

Mais souvent ces matériaux ont besoin, pour être attaqués, de subir une transformation préalable, d'être ramenés à un état moléculaire plus simple. La cellule vivante préside elle-même à ce travail préparatoire au moyen des *diastases* qu'elle sécrète, et l'étude de ces actions diastasiques s'ajoutera à celle des produits formés pendant la fermentation.

Si l'on veut étudier ces actions dans un but de diagnostic, on comprend qu'il faut d'abord faire un choix judicieux parmi les nombreuses réactions possibles et se borner à étudier les plus simples et les plus caractéristiques.

1° Matières albuminoïdes

Aussi laisserons-nous entièrement de côté l'étude de la fermentation des matières albuminoïdes. La nature chimique de ces substances commence à peine à être connue et ce que l'on sait de leur constitution n'est pas fait pour encourager le chimiste le plus résolu. Le nombre des produits secondaires qui peuvent prendre naissance par la dislocation d'un corps à poids moléculaire aussi élevé est considérable, et les composés intermédiaires pouvant à leur tour se dédoubler en produits plus simples, le processus d'une telle fermentation échappe en partie à l'analyse. Les renseignements que nous pourrions en tirer ne répondraient pas à l'effort tenté pour les obtenir, ils ne seraient d'aucune utilité pour le but que nous poursuivons, le diagnostic des espèces. Nous laisserons donc à ceux qui auraient du temps à perdre le soin d'extraire des bouillons de culture les *ptomaïnes* variées qui s'y rencontrent toujours. Un tel travail sort des limites des opérations que l'on peut se permettre dans un laboratoire de bactériologie.

Nous demanderons aux substances protéiques des réactions simples. Le blanc d'œuf cuit nous dira si une bactérie sécrète ou non de la trypsine ; le lait nous donnera l'épreuve de sa coagulation ; la peptone, la réaction de l'indol.

Parmi les matières azotées pouvant faire suite aux matières albuminoïdes, il faut signaler l'urée et les nitrates.

Urée. — La transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque sous l'action de l'*uréase* de Musculus (1) sécrétée par les microbes a été étudiée, dans un remarquable travail, par Miquel, qui a désigné toute une classe de Bactéries sous le nom d'Urobactéries. On fera bien de se reporter aux mémoires si documentés du savant bactériologiste publiés dans les *Annales de micrographie* (2). Le milieu employé est une solution d'urée à 2 pour 100, dans l'eau peptonisée à 1 pour 100.

Nitrates. — Un grand nombre de Bactéries réduisent les nitrates alcalins en nitrites ; d'autres, poussant plus loin leur action, les décomposent entièrement en laissant dégager l'azote.

(1) Musculus, *C.-R. de l'Académie des sciences*, LXXVIII, p. 132; LXXXII, p. 333.
(2) Miquel, *Annales de micrographie*, 1889-1896.

Mais il n'est pas indifférent d'introduire le nitrate dans un milieu nutritif quelconque. J'ai démontré (1) en effet que la nature du milieu joue un rôle considérable.

Prenons en effet le *B. coli*, ensemençons-le dans une solution de peptone à 1 °/o additionnée de 1 °/o de nitrate de potasse. Aucun dégagement gazeux ne se produit. L'analyse montre seulement qu'une faible partie du nitrate est transformée en nitrite. Ajoutons de l'extrait de viande à notre solution de peptone, ou bien remplaçons-la par du bouillon ordinaire, nous assisterons alors à une véritable fermentation accompagnée d'un dégagement de gaz abondant.

D'où vient cette différence d'action ? Elle est due, comme je l'ai démontré, à la présence dans le bouillon ou dans l'extrait de viande de substances amidées sur lesquelles agit l'acide azoteux résultant de la réduction de l'azotate par la Bactérie. En effet, chaque fois que le *B. coli* a donné un dégagement gazeux dans un milieu nitraté le volume de l'azote recueilli a toujours été supérieur au moins du double à celui qui correspond à l'azotate détruit. Par conséquent, cet azote ne provient pas exclusivement des nitrates ; j'ai pu prouver qu'il venait des substances complexes à fonction amidée qu'on rencontre toujours dans le bouillon.

Par contre, certains microbes, tels que le Bacille pyocyanique, décomposent les nitrates sans le secours des matériaux amidés, c'est-à-dire qu'ils attaquent directement le nitrate, même dans une solution de peptone, et le volume de l'azote dégagé est égal à celui qui correspond au nitrate détruit.

Je désignerai sous le nom de *ferments dénitrifiants vrais* ceux qui, comme le Bacille pyocyanique, dégagent l'azote des nitrates en solution peptonée, et je réserverai le nom de *ferments dénitrifiants indirects* à ceux qui ne produisent ce résultat qu'en présence des principes amidés du bouillon.

Pour étudier l'action des Bactéries sur les nitrates, il ne faudra pas perdre ces faits de vue et n'employer que le milieu suivant :

Nitrate de potasse pur.	1.
Peptone	1.
Eau distillée	100.

(1) L. Grimbert, Action du *B. coli* et du B. d'Eberth sur les nitrates. *C.-R. de l'Academie des sciences*, 11 décembre 1898.

Ne seront considérés comme de véritables ferments dénitrifiants que ceux qui, dans un tel milieu, donneront lieu à une action fermentative. — Ceux qui ne donneraient qu'une réduction des nitrates seront transportés sur du *bouillon* nitraté afin de s'assurer qu'ils appartiennent réellement aux ferments dénitrifiants indirects.

2° Hydrates de carbone.

Les hydrates de carbone offrent aux bactériologistes un vaste champ d'expériences, qui commence à peine à être défriché. La facilité de les obtenir à l'état de pureté, les moyens nombreux dont on dispose pour analyser les produits de leur décomposition, leur nombre enfin et la variété de leur constitution les rendent précieux pour l'étude des propriétés biologiques des Bactéries. Mais si on veut arriver à des résultats sérieux il faut, de toute nécessité, avoir recours aux méthodes précises et délicates de la chimie pour déterminer la nature des produits formés.

Depuis longtemps on sait distinguer le Bacille typhique du Coli-bacille par l'action fermentative que ce dernier exerce seul sur le lactose ; et s'il s'est produit quelques hésitations dès le début de cette découverte, c'est que les auteurs ne s'étaient pas suffisamment rendu compte des différences chimiques qui existent entre des sucres très voisins.

Le *Bacillus coli*, à son tour, présente certaines variétés que l'on commence à caractériser par leurs réactions sur les hydrates de carbone. Les unes font fermenter le saccharose et la glycérine, d'autres sont sans action sur ces corps (1).

Si l'on pousse plus loin les investigations, si l'on détermine les produits qui prennent naissance, on découvre de nouvelles sources de différenciation, par exemple dans le sens de la rotation des acides lactiques isomériques formés (2). C'est ainsi que le Coli-bacille isolé du tube intestinal de l'homme donne avec la glycose de l'acide lactique *gauche*, tandis que le Coli-bacille des nourrissons, de même que celui qui provient de divers animaux, donne dans les mêmes conditions de l'acide lactique *droit*.

(1) L. Grimbert, *C. R. de la Société de biologie*, p. 694, 1896.

(2) Péré, Acides lactiques isomériques. *Annales de l'Institut Pasteur*, VII, p. 737, 1893.

Je pourrais citer aussi le Pneumobacille de Friedländer, dont j'ai pu séparer les diverses variétés par l'étude de leur action sur les sucres (1), expériences que j'exposerai tout à l'heure en détail.

Ces exemples, que je pourrais multiplier, montrent que le temps est proche où tout bactériologiste devra être doublé d'un chimiste, et que les indications superficielles fournies par la simple observation de nos tubes de culture ne répondent plus aux exigences légitimes de l'heure présente.

Les hydrates de carbone doivent être chimiquement purs. C'est une condition impérieuse. Que d'erreurs commises parce que du lactose renfermait des traces de glucose !

On devra donc vérifier avec soin leurs constantes physiques, au besoin les soumettre à des purifications nouvelles, et s'il est nécessaire, les essayer par des ensemencements de microbes types. Ces derniers, plus sensibles en cela que bien de nos réactifs, sauront déceler les traces d'impuretés qui pourraient nous échapper.

Après quoi il faudra s'entendre sur la constitution du milieu nutritif. L'attaque des sucres ne peut se faire que si le milieu renferme un aliment azoté. Sous quelle forme doit-on leur fournir l'azote? La question est importante. Le Coli-bacille des nourrissons, dont nous parlions tout à l'heure, qui, dans une solution de glycose additionnée de peptone, donne de l'acide lactique *droit*, donne au contraire de l'acide lactique *gauche* dès qu'on remplace la peptone par des sels ammoniacaux (2).

Aussi proposerai-je de se servir exclusivement de peptone dans la formule unifiée des milieux de culture à base d'hydrate de carbone, quitte à la remplacer par des sels ammoniacaux pour étudier les variations qui peuvent résulter de cette substitution.

La manière de préparer les milieux diffère suivant qu'il s'agit de milieux fermentescibles destinés aux recherches chimiques, ou de simples milieux-réactifs permettant de s'assurer rapidement si un sucre donné est attaqué ou non.

Dans ce dernier cas, comme l'attaque de la matière sucrée se traduit toujours par une production d'acide, il s'agit tout simplement de constater si le milieu sucré s'est acidifié, et il semble que

(1) Voir page 290.

(2) PÉRÉ, Coli-bacille de l'adulte et Coli-bacille du nourrisson. *C.-R. de la Société de biologie*, p. 446, 1896.

rien ne soit plus facile. Il faut croire que non, car le nombre des milieux imaginés dans ce but est considérable, surtout quand il s'agit des milieux lactosés servant à différencer le Bacille typhique du Coli-bacille. Cela tient surtout à ce que ces diverses préparations manquent de sensibilité. Et il ne peut guère en être autrement. La plupart sont à base de gélose ou de gélatine nutritives plus ou moins alcalinisées (1). Or, ces substances complexes donnent lieu à des réactions mal connues qui entravent le virage, surtout si l'on s'adresse comme indicateur aux couleurs d'aniline décolorées par les alcalis. Cette décoloration ne peut être obtenue qu'à l'aide d'un excès d'alcali qu'on ajoute au jugé. Par conséquent, si on a affaire à des ferments peu actifs, il peut arriver que la faible acidité qu'ils développent en attaquant le sucre soit insuffisante pour saturer l'excès d'alcali ajouté sans mesure et le virage ne se produit pas, de là une cause d'erreur.

On évite tous ces inconvénients en préparant des milieux liquides d'après les indications suivantes :

Dans une capsule de porcelaine on porte à l'ébullition :

Hydrate de carbone pur	2 gr.
Peptone (2).	0 gr.50.
Eau distillée	100 gr.

Après dissolution, on y ajoute une petite quantité de carbonate de chaux pur, bien exempt de carbonate de soude et on maintient l'ébullition pendant cinq minutes. On filtre et on s'assure par la teinture de tournesol que le liquide a une réaction neutre et non acide.

On répartit la solution dans des tubes à essai et on stérilise à 110° pendant un quart d'heure. Après refroidissement, on ajoute dans chaque tube un demi à un centimètre cube de teinture de tournesol préalablement stérilisée. Cette teinture de tournesol doit posséder une teinte violacée intermédiaire entre le rouge et le bleu et virant facilement sous l'influence de la moindre trace d'acide ou d'alcali. Pour la préparer on suivra scrupuleusement le procédé indiqué par Jungfleisch dans ses *Manipulations de chimie* (3).

(1) L. Grimbert et G. Legros, Sur un milieu lactosé destiné à remplacer le petit lait tournesolé de Petrushky. *C.-R. de la Société de biologie*, p. 912, 1901.

(2) La nature de la peptone a peu d'importance. Il faut choisir de préférence celle dont la solution est peu colorée et qui ne possède pas de réaction alcaline.

(3) E. Jungfleisch, *Manipulations de chimie*. Paris, J.-B. Baillière et fils, 1893.

Ces solutions, exactement neutralisées au carbonate de chaux, sont d'une sensibilité exquise et doivent être substituées à tous les milieux solides employés jusqu'ici.

Pour étudier de plus près l'action fermentative d'une Bactérie on aura recours à un milieu plus riche en peptone dans lequel on aura soin d'introduire du carbonate de chaux pur et lavé pour saturer les acides au fur et à mesure de leur formation.

Le milieu suivant m'a toujours donné de bons résultats :

Hydrate de carbone	30
Peptone.	10
Eau distillée	1000
Carbonate de chaux pur	Q.S.

Avec certaines espèces, peu difficiles sur le choix de l'azote alimentaire, on peut simplifier la formule précédente — sous réserve de ce que nous avons dit de la substitution de l'azote ammoniacal à l'azote albuminoïde — et arriver à un milieu ne renfermant que des corps chimiques parfaitement définis. Tel est celui-ci :

Hydrate de carbone.	30
Sulfate d'ammoniaque	1
Phosphate d'ammoniaque.	1
Eau distillée.	1000
Carbonate de chaux pur	Q.S.

On peut même diminuer de moitié la teneur en sels ammoniacaux.

Un tel milieu ne peut convenir à toutes les espèces, mais, toutes les fois qu'une Bactérie s'en accommodera on devra lui donner la préférence à cause de la simplicité de sa composition et du facile dosage de ses éléments.

Ces solutions seront réparties à la dose de 500 c.c. dans des matras et stérilisées.

3° Milieux divers.

Sous cette dénomination je comprends les milieux à base de certains sels organiques capables d'être décomposés par les microbes. Tels sont les tartrates, les succinates, les lactates, les malates, etc. Il suffira, pour les préparer, de remplacer dans la formule précédente l'hydrate de carbone par le sel organique. Quand il s'agira de sels de calcium l'addition de craie lavée n'est pas nécessaire.

4° Milieux spécifiques.

Nous ne pouvons que les mentionner en insistant sur l'intérêt qu'ils présentent pour le diagnostic de l'espèce. La gélose-peptone glycérinée de Gessard pour le Bacille pyocyanique, le liquide de Raulin pour l'*Aspergillus*, le sérum solidifié pour le Bacille de la diphtérie, les milieux glycérinés de Nocard et Roux pour le Bacille de la tuberculose, la gélose au sang de Bezançon, etc., peuvent servir de type à ces milieux. On ne saurait trop les multiplier.

Les exemples que nous venons de citer suffisent, je pense, pour montrer la nécessité d'une entente entre les bactériologistes et j'espère avoir indiqué le sens de la direction à suivre. Quand les milieux de culture seront partout unifiés ils acquièreront dans la main d'expérimentateurs habiles la valeur de véritables réactifs, à la condition qu'on ne perde pas de vue que ces réactifs sont destinés à caractériser, non une substance chimique définie toujours identique à elle-même, mais un être vivant, siège de variations parfois déconcertantes que nous ne sommes pas maître de diriger à notre gré.

Une fois en possession de milieux définis, adoptés par l'universalité des bactériologistes, il s'agira de dresser une liste des épreuves à faire subir à chaque nouveau microbe pour mettre en évidence ses diverses fonctions. Les renseignements que l'on tirera de cette étude, nous l'avons déjà démontré, ne sauraient être absolus, ils dépendent pour cela d'un trop grand nombre de facteurs; mais il est bien entendu que si les épreuves sont subies dans les mêmes conditions de milieu et d'ensemencement, les résultats seront comparables et c'est tout ce que l'on peut demander pour le moment.

En résumé, deux choses sont à faire :

1° *Déterminer et fixer la composition des milieux de culture universellement employés et le mode rationnel de leur préparation.*

2° *Etablir des règles conventionnelles pour l'examen des propriétés morphologiques et biologiques d'un microbe ; c'est-à-dire dresser la liste des épreuves à lui faire subir pour mettre en évidence ses diverses fonctions.*

DEUXIÈME PARTIE

PLAN D'UNE MARCHE MÉTHODIQUE POUR L'ÉTUDE DES FONCTIONS BIOLOGIQUES DES BACTÉRIES

A titre de simple indication, j'exposerai dans le présent chapitre le plan d'une marche méthodique permettant de passer en revue les principales fonctions biologiques des microbes, à l'aide de réactions chimiques élémentaires. Ce n'est pas un modèle que je propose et je n'ai pas la prétention de n'avoir rien oublié. Cependant par le nombre de fonctions qu'elle prévoit, cette marche, bien qu'imparfaite, permettra de faire un premier tri parmi les nombreuses espèces déjà décrites et d'établir un peu d'ordre au milieu du véritable chaos où nous vivons.

Dans la marche méthodique que je propose (1) je développerai surtout la partie bio-chimique en laissant volontairement de côté tout ce qui se rattache à la virulence ou à la toxicité des microbes, ainsi qu'aux propriétés agglutinantes. Le détail des manipulations et les procédés de dosage trouveront leur place dans le chapitre suivant.

A. — Biologie générale et Morphologie

I. — Examen Microscopique

A. — *Sans coloration* en goutte pendante. Cet examen se fera sur de jeunes cultures prises sur bouillon et sur agar, puis sur les mêmes cultures plus âgées. Il ne sera pas rare de rencontrer des différences très appréciables entre les premières et les secondes. — Souvent des Bacilles réputés immobiles présentent quelques mouvements dans les premiers moments de leur existence. Pour chacune de ces observations on notera avec soin :

a. — La mobilité ;
b. — La forme des mouvements et leur rapidité.

B. — *Avec coloration.*

1° Par les colorants usuels (fuchsine de Ziehl, violet de gen-

(1) Cf. La marche proposée par le Comité américain, p. 302 (appendice).

tiane, etc.) on appliquera la coloration aux mêmes cultures que précédemment, on notera :

a. — La forme.

b. — La dimension.

c. — L'arrangement des Bactéries.

d. — La présence ou l'absence de spores.

e. — La présence ou l'absence de capsule ou d'auréole.

2° Par la méthode de Gram.

3° Par les colorants spéciaux.

4° Coloration spéciale des cils vibratiles.

II. — DÉTERMINER SI LE MICROBE EST AÉROBIE, ANAÉROBIE OU ANAÉROBIE FACULTATIF.

III. — DÉTERMINER LA TEMPÉRATURE OPTIMA DE SA CULTURE SUR BOUILLON.

IV. — ETUDIER SA RÉSISTANCE A LA CHALEUR.

B. Caractères des cultures dans les milieux usuels.

1° BOUILLON SIMPLE. — On notera :

a. — Le temps que le bouillon met à se troubler.

b. — L'aspect du trouble (uniforme, grumeleux, en ondes soyeuses).

c. — La formation d'un voile (irisé, épais et muqueux, sec, avec de nombreux replis, etc.).

d. — La formation d'un dépôt (pulvérulent, muqueux, caséeux, etc.)

e. — La réaction du milieu.

f. — L'odeur de la culture.

g. — La présence de pigments.

2° GÉLATINE en plaques et en piqûre.

A. — *Gélatine en plaques.* — On notera :

a. — La date de l'apparition des colonies.

b. — La marche de leur développement.

c. — Leur aspect, leur coloration.

d. — La date et la marche de la liquéfaction.

e. — L'odeur de la culture.

B. — *Gélatine en piqûre.* — On notera :

a. — L'aspect que prend, dans l'intérieur de la gélatine, la

trace d'inoculation (trace invisible, uniforme, granuleuse, arborescente, etc.)

b. — La marche de la liquéfaction (formation d'entonnoir, de cupule, etc.)

3° Gélose. — L'aspect des cultures sur gélose est rarement caractéristique. — On en tiendra compte néanmoins.

4° Sérum solidifié. — On notera le temps d'apparition des colonies.

5° Pommes de terre. — L'emploi des pommes de terre ne devrait pas figurer dans cette marche méthodique. Rien n'est plus variable que les cultures obtenues sur ce milieu. Elles dépendent de la nature de la pomme de terre et de son âge. Le système des cultures parallèles sur la même tranche pourra rendre des services quand on voudra comparer une Bactérie à une espèce déjà déterminée.

Il est évident que si le microbe isolé pousse mal sur les milieux usuels, on devra rechercher, comme nous le disions au chapitre précédent, le milieu de choix qui favorisera son développement.

C. Caractères bio-chimiques

1° Action sur les matières azotées

I. Peptone. — Recherches de l'indol.

II. Albumine cuite. — Recherche de la *trypsine*. — Peptonification et présence de la tyrosine.

III. Lait. — Coagulation : 1° par acidification du milieu ; 2° par sécrétion de *présure*. Peptonification de la caséine par la *caséase* (trypsine) avec ou sans coagulation préalable.

IV. Urée. — Transformation en carbonate d'ammoniaque sous l'action de l'*uréase*.

V. Nitrates. — Déterminer si on a affaire à un Bacille dénitrifiant vrai, ou à un Bacille dénitrifiant indirect (page 257) et noter les cas suivants :

1° Le nitrate est réduit en nitrite sans dégagement gazeux.

2° Le nitrate est décomposé avec dégagement gazeux : (a) avec formation de nitrite ; (b) sans formation de nitrite.

2° Action sur les hydrates de carbone.

Dans ces essais, deux questions se posent :

1° L'hydrate de carbone est-il attaqué ?

2° Et s'il l'est, quels sont les produits formés ?

La première question se résout facilement par l'emploi des milieux peptonés neutres et tournesolés (page 261).

La seconde par une analyse complète dont la marche sera décrite en détail dans le chapitre suivant.

Le nombre des hydrates de carbone est considérable, aussi avons-nous dû nous borner à ne retenir que les principaux. Ceux que nous avons choisis nous permettront de déceler dans les cultures la présence de certaines diastases (sucrase, maltase, etc.) et aussi d'établir une distinction entre les espèces par la manière dont elles se comporteront en présence de corps isomères (mannite et dulcite par exemple).

Nous adopterons pour les hydrates de carbone la classification suivante :

I. — Alcools polyatomiques.

1° *Glycérine* ; 2° *Mannite* ; 3° *Dulcite* ; 4° *Erythrite.*

Certaines Bactéries, douées de propriétés oxydantes, pouvant transformer un alcool polyatomique en une aldose correspondante (par exemple la mannite en lévulose, la sorbite en sorbose, etc.), il est bon, même en cas de non fermentation, de s'assurer que le milieu de culture n'a pas acquis de propriétés réductrices.

II. — Pentoses (sucres en C^5)

1° *Arabinose* ; 2° *Xylose.*

III. — Hexoses (sucres en C^6)

1° *Glucose* ; 2° *Lévulose* ; 3° *Galactose* ; 4° *Mannose.*

IV. — Hexobioses (sucres en C^{12})

1° *Saccharose.* — Caractériser la *Sucrase* s'il y a lieu.

2° *Maltose.* — Caractériser la *Maltase.*

3° *Lactose.* — Caractériser la *Lactase.*

V. — Autres hydrates de carbone

1° *Dextrine.* — Rechercher si la dextrine a été transformée en maltose (action de la *dextrinase* ?).

2° *Inuline.* — Rechercher la formation de la lévulose et, par là même, la présence d'*inulase.*

3° *Amidon.* — Liquéfaction de l'empois. Recherche du maltose et des dextrines (*amylase*).

3° Action sur certains sels organiques

Il s'agit particulièrement des malates, tartrates, succinates et citrates de chaux ou d'ammoniaque.

Pour quelques-uns d'entre eux, l'attaque se manifeste par un dégagement gazeux. Pour les autres, on ne pourra s'en assurer que par une véritable analyse chimique.

L'analyse des produits formés pendant la fermentation des hydrates de carbone fournira de nouveaux éléments de différenciation. Un dosage rigoureux ne s'impose que si l'on veut pousser à fond l'étude des fonctions bio-chimiques d'un microbe et établir l'équation d'une fermentation ; mais, pour le diagnostic des espèces, une détermination qualitative sera suffisante.

La liste des corps qu'on est susceptible de rencontrer est déjà fort longue, et elle s'allongera encore à mesure que se perfectionneront les moyens d'investigation. C'est ainsi qu'on a déjà signalé :

Les alcools éthylique, propylique, butylique normal et isobutylique, amylique ; l'aldéhyde, l'acétone, l'acétylméthylcarbinol.

Les acides formique, acétique, propionique, butyriques, valérianiques, caproïque, lactiques droit et gauche, succinique, gluconique. Parmi les gaz, l'hydrogène, le méthane, l'acide carbonique, l'hydrogène sulfuré.

Et je ne parle ici que de la fermentation des hydrates de carbone, laissant volontairement de côté la fermentation des matières albuminoïdes, trop complexes pour le but que nous poursuivons ; sinon il aurait fallu ajouter à cette liste les alcaloïdes (ptomaïnes) les amines, les phénols, les mercaptans, etc.

D. **Phénomènes d'agglutination**.

E. **Inoculation aux animaux**.

TROISIÈME PARTIE

PROCÉDÉS ANALYTIQUES.

Le présent chapitre est pour ainsi dire le développement de celui qui précède. J'y exposerai les procédés permettant de déterminer les produits formés dans les cultures et de les doser toutes les fois que la chose sera possible. Je ne donnerai que les méthodes et les réactions qui me sont passées réellement par les mains et dont je puis répondre par expérience.

PEPTONE. — On opère, comme nous l'avons dit plus haut (p. 253) sur une solution aqueuse de peptone à 3 p. 100, répartie dans des tubes à essai. La culture est laissée à l'étuve à 37° pendant 48 heures.

Réaction de l'Indol. — Au contenu d'un tube à essai on ajoute X gouttes d'une solution de nitrate de potasse ou de soude à 0,02 p. 100 et XX à XXX gouttes d'acide sulfurique pur. S'il y a de l'indol on obtient une coloration rouge groseille plus ou moins intense. Dans le cas où la réaction manque de netteté, par exemple lorsqu'il ne se produit qu'une coloration rosée, on ajoute quelques centimètres cubes d'alcool amylique et on agite. L'alcool amylique se sépare en entraînant le dérivé nitrosé et le met nettement en évidence.

ALBUMINE CUITE. — S'il y a attaque, les cubes de blanc d'œuf cuit deviennent transparents en même temps que leurs angles s'émoussent ; ils finissent même par disparaître à la longue. Cette dissolution est due à l'action de la *trypsine* sécrétée par la Bactérie. Cette diastase agit en milieu neutre ou alcalin ; elle transforme l'albumine en albumoses et en peptone, et, poussant plus loin son action, elle attaque cette dernière en donnant de la tyrosine. Par conséquent, le liquide filtré donnera la réaction du biuret (albumoses et peptone) et le dépôt formé au fond du vase permettra de reconnaître la tyrosine au microscope par sa forme cristalline. La tyrosine pourra être caractérisée également par l'action de la tyrosinase renfermée dans le suc de *Russula delica* (Bourquelot et Bertrand) ou par le réactif de Denigès (1).

(1) DENIGÈS, Chimie analytique, p. 61.

LAIT. — L'action des microorganismes sur le lait peut s'exercer de plusieurs manières :

1° Ils y croissent sans modifier le milieu.

2° Ils le coagulent. Cette coagulation peut être due :

(a) à l'acidification du milieu,

(b) à la sécrétion de la présure.

3° Ils peptonifient la caséine :

(a) sans coagulation préalable,

(b) après coagulation.

La coagulation par acidification du milieu n'est que la conséquence d'une fonction qu'on peut reconnaître par d'autres procédés, la fermentation du lactose ; elle ne présente donc pas de caractère spécifique. On pourrait ajouter au lait qu'on stérilise un peu de carbonate de chaux pur et précipité afin de maintenir la neutralité du milieu et d'éviter ainsi cette coagulation par les acides.

Il n'en est pas de même de la coagulation par la présure. Elle a lieu en milieux neutres : elle est favorisée par la présence de quelques millièmes de chlorure de calcium.

Quand du lait stérilisé se coagule sous l'action d'un microbe, on devra s'assurer que cette coagulation est bien due à la production de *présure*. Aussitôt la coagulation achevée, le liquide filtré et neutralisé s'il y a lieu, sera ajouté à son volume de lait frais, additionné de deux millièmes de chlorure de calcium. Le mélange, maintenu à une température de 37°, devra se coaguler très rapidement.

Certains microbes ne sécrétant que de la présure, bornent leur action à la coagulation du lait. D'autres, produisant en même temps de la caséase (trypsine), peptonifient la caséine précipitée. D'autres enfin, ne produisant pas de présure, peptonifient directement la caséine sans la coaguler. On devra donc observer le caillot de caséine et noter s'il change d'aspect. Dans le cas de peptonification, on le verra disparaître peu à peu, pour donner naissance à un liquide jaunâtre, un peu visqueux et opalescent.

Lorsque le lait, sans se coaguler, se transforme peu à peu en un liquide transparent et jaunâtre, c'est que le microbe sécrète seulement de la caséase.

URÉE. — Pour s'assurer qu'un microbe attaque l'urée, on est obligé de doser celle-ci avant et après l'action du ferment.

On commence par préparer une solution renfermant pour 100 cc. 2 gr. d'urée et 1 gr. de peptone ; on le répartit dans deux ballons qu'on stérilise à 110° pendant un quart d'heure. L'un des ballons est ensemencé, l'autre sert de témoin pour déterminer la petite quantité d'urée décomposée pendant la stérilisation.

Pour doser l'urée décomposée on évapore, au bain-marie, 10 cc. de la culture dans une petite capsule de porcelaine et on la maintient pendant une demi-heure à 100° après dessiccation. Le carbonate d'ammoniaque formé est ainsi éliminé. Le résidu est repris par l'eau et l'urée dosée au moyen de l'hypobromite. La différence donne la quantité d'urée transformée en carbonate d'ammoniaque (1).

Nitrates. — On commence par préparer deux solutions qu'on répartit dans des tubes à essai, l'une renfermant 1 gr. de nitrate de potasse, et 1 gr. de peptone pour 100 cc. d'eau distillée, la seconde 1 gr. de nitrate de potasse pour 100 cc. de *bouillon nutritif*. Deux tubes de chaque série sont ensemencés et placés à l'étuve à 37°.

Dans le cas d'un ferment dénitrifiant *vrai* les deux solutions donneront lieu à un dégagement gazeux. Pour un ferment dénitrifiant indirect, le bouillon nitraté fermentera seul. Mais, qu'il y ait ou non fermentation apparente, il faudra toujours rechercher dans les solutions la présence de nitrites, et noter avec soin le résultat obtenu.

Pour la recherche des nitrites je me suis servi du réactif de Griess qui se compose de deux solutions :

Solution A.

Chlorhydrate de naphtylamine	0 gr.20
Acide chlorhydrique	1 cc.
Eau distillée.	100 cc.

Solution B.

Acide sulfanilique	1 gr.
Eau distillée.	100 cc.

On ajoute, dans le tube à essai contenant la culture, 1 cc. de chaque solution et on agite. S'il y a des nitrites on obtient une coloration rouge plus ou moins intense.

La décomposition plus profonde du nitrate donnant lieu à un dégagement gazeux est facile à saisir quand on affaire à un

(1) Miquel, *Annales de Micrographie*, 1889-1896.

ferment dénitrifiant énergique tel que le Bacille pyocyanique. Dans ce cas, on assiste à une véritable fermentation avec formation de mousse plus ou moins abondante. Mais si le ferment est peu actif, le dégagement gazeux peut passer inaperçu et il faut alors avoir recours, pour être fixé, à un dispositif spécial suivi d'une analyse complète comprenant le dosage de l'azotate avant et après l'action du microbe, le dosage des gaz recueillis et, dans certains cas, celui de l'azotite formé.

Voici dans ce cas la méthode que j'ai employée.

Afin de recueillir facilement les gaz, j'ai fait usage de matras de 125 cc. à col étroit, sur lequel est soudée une tubulure latérale deux fois recourbée. Le col du matras peut être fermé par un bon bouchon en caoutchouc.

Le matras est rempli aux 3/4 du liquide de culture. Le col est bouché par un tampon de coton, et l'extrémité inférieure du tube recourbé est coiffée par une sorte de dé en caoutchouc. Quant aux bouchon, on l'enveloppe de plusieurs doubles de papier à filtre et on l'attache au ballon par une ficelle. Le tout est stérilisé à l'autoclave à 120° C. en même temps qu'un ballon renfermant le même liquide de culture, et dont le col est muni également d'un tampon de coton.

Après refroidissement, à l'aide d'une pipette à boule flambée, on achève de remplir le matras tubulé ; on remplace le tampon de coton par le bouchon de caoutchouc débarrassé de ses enveloppes. Pour plus de sécurité, on porte le matras ainsi disposé à l'étuve à 37° pendant 24 heures, après quoi on l'ensemence avec quelques gouttes d'une culture sur bouillon.

Une fois ensemencé, et après avoir ôté le dé qui ferme la tubulure latérale, on dispose le matras de façon à conduire le gaz sous le mercure. Un simple verre à expérience suffit généralement. Les gaz recueillis sont transportés sur la cuve à mercure de Doyère et analysés par les procédés habituels.

Dosage des nitrates. — Les nitrates sont dosés par la méthode de Schlœsing en opérant comparativement avec une solution de nitrate de potasse pur à 1 °/o. Il faut avoir soin de se débarrasser de l'acide carbonique résultant de l'action de la liqueur acide sur le bicarbonate de potasse qui se forme parfois dans certaines cultures.

Dans le cas fréquent d'un mélange de nitrate et de nitrite, ce

dernier étant en faible quantité, les deux sels peuvent être comptés comme nitrates. L'azotite est ensuite dosé à part.

Dosage des nitrites. — Comme j'opérais sur des milieux très chargés de matières organiques et en général colorés, j'ai eu recours à un procédé analogue à celui de Vivier (1) mais que j'ai simplifié sans lui enlever de son exactitude.

Quand on fait agir l'acide nitreux sur l'urée, on obtient toujours, pourvu que celle-ci soit en excès, un volume d'azote double de celui qui correspond à l'acide nitreux :

$$CO(Az\,H^2)^2 + Az^2\,O^3 = 4\,Az + CO^2 + 2\,H^2\,O$$

Vivier opérait à chaud dans un courant continu d'acide carbonique, ce qui nécessitait l'usage d'un réfrigérant ascendant et d'un appareil à lessive de soude de Dupré.

On arrive aux mêmes résultats (2) en opérant de la manière suivante :

Dans une cloche à gaz à robinet, assez courte pour être maniée facilement sur la cuve à mercure de Doyère, et remplie de mercure, on introduit successivement des volumes égaux des solutions suivantes :

1° Milieu renfermant le nitrite à doser ;

2° Solution d'urée à 10 °/o ;

3° Acide sulfurique étendu de moitié d'eau.

La réaction est instantanée. On agite, et après quelques minutes de repos on fait passer le gaz dans une pipette de Salet, garnie de lessive de soude pour absorber l'acide carbonique.

L'azote restant est transvasé dans une cloche graduée en dixièmes de cc. que l'on porte dans une éprouvette pleine d'eau. Le volume, réduit à 0° et 760mm, en tenant compte de la tension de vapeur d'eau, est transformé en poids par le calcul. La moitié de ce poids appartient à l'azote du nitrite ; une simple opération donne ensuite le poids du nitrite correspondant.

Dans trois expériences dans lesquelles j'ai fait varier la quantité de nitrite en solution, j'ai obtenu, comparativement avec le dosage au permanganate, les chiffres suivants :

(1) *C. R. de l'Acad. des sciences*, 1888, CVI, p. 138.

(2) L. Grimbert, Dosage des nitrites. *Société de biologie*, 1898, p. 1135.

	Par le permanganate	Par le procédé donné
	—	—
1re Expérience.	79 mg 80	79 mg 70
2e »	46 mg 32	46 mg 20
3e »	43 mg 60	43 mg 65

Le procédé est donc exact. J'ajouterai qu'il n'est influencé ni par la présence des nitrates ni par les matières organiques.

Comme exemple de ferment dénitrifiant indirect, je donne dans le tableau suivant les chiffres fournis par un Coli-bacille ensemencé: 1° dans une solution nitratée à 1 °/₀ additionnée de 1 °/₀ de peptone ; 2° dans la même solution nitratée et peptonée renfermant en outre 1 °/₀ d'extrait de viande. Les chiffres de la première colonne se rapportent aux résultats fournis par un Bacille dénitrifiant direct, le B. pyocyanique ensemencé simplement dans une solution nitratée additionnée de 1 °/₀ de peptone.

	Solution nitratée + 1 °/₀ de peptone		Même solution peptonée et nitratée + 1 °/₀ Extrait de viande
	B. pyocyanique	B. coli	B. coli
	—	—	—
Azotate existant avant l'expérience . .	1,250	1,250	1,250
Azotate détruit	0,910	0,000	0,055
Azotite formé	0,136	0,050	0,222
—	—	—	—
Gaz total	100cc.48	0cc.00	32cc.78
—	—	—	—
CO^2.	0	0	9cc.33
Azote.	100cc.48	0	23cc.45
—	—	—	—
Azote correspondant à l'azotate détruit.	100cc.41	0	6cc.05

La différence d'action entre ces deux catégories de microbes est frappante.

Le B. pyocyanique ne donne que de l'azote sans trace d'acide carbonique. L'acide carbonique résultant de la combustion du carbone de la peptone se retrouve tout entier à l'état de bicarbonate de potasse, d'où l'alcalinité très prononcée du milieu et l'effervescence qu'il donne avec les acides. Le volume d'azote dégagé correspond exactement à celui qui résulte de la destruction du nitrate.

Avec le *Bacillus coli* le milieu reste neutre, l'azote est accompagné d'acide carbonique. Le volume de l'azote recueilli est quatre fois supérieur à celui qui correspond au nitrate décomposé.

Hydrates de Carbone

DOSAGE DES SUCRES

A. — *Le milieu ne renferme qu'une seule espèce de sucre.*

Dans ce cas le dosage peut être effectué soit par l'examen polarimètrique, soit par réduction.

1° *Examen polarimétrique.* — Le polarimètre dont je me suis servi est le polarimètre à pénombre de Laurent, qui nécessite l'emploi de la lumière jaune mono-chromatique correspondant à la raie D du sodium.

D'autre part, comme les sucres, ainsi que je l'ai démontré (1) possèdent tous la même dispersion rotatoire, j'ai fait usage, pour simplifier les calculs, de l'échelle saccharimétrique.

Cette échelle est basée sur ce fait qu'une lame de quartz de 1 millimètre d'épaisseur fait dévier un rayon polarisé fourni par la lumière monochromatique du sodium de + 21°67. Cet angle est divisé en 100 parties dont chacune représente une division saccharimétrique. Un degré d'arc correspondra donc à 4,6 divisions saccharimétriques.

Pour déterminer la valeur du degré saccharimétrique d'un sucre, c'est-à-dire le poids de sucre par litre auquel correspond une division de cet ordre, on part de la formule générale $[\alpha]_D = \frac{a\,v}{l\,p}$ dans laquelle $[\alpha]_D$ représente le pouvoir rotatoire du sucre pour la raie D ; a la déviation en degrés d'arc ; v le volume exprimé en centimètres cubes ; l la longueur du tube en décimètres ; et p le poids de sucre dissous dans v.

En faisant $a = 1°$; $v = 1000$; $l = 2$, on en déduit le poids p de sucre par litre qui représente une déviation angulaire de 1 degré :

$$\text{soit : } p = \frac{1 \times 1000}{2 \times [\alpha]_D}$$

En divisant ensuite p par 4,6 on obtient la valeur du degré saccharimétrique pour le sucre en question.

Ce nombre représentera le coefficient par lequel il faudra multi-

(1) L. Grimbert, *Contribution à l'étude de la dispersion rotatoire.* Thèse de l'École supérieure de Pharmacie de Paris, 1887.

plier chaque degré saccharimétrique (δ) pour avoir la teneur en sucre par litre de la solution observée.

Pour les sucres dont le pouvoir rotatoire varie avec la température tels que le lévulose, le sucre interverti, le lactose, le maltose, j'ai établi des formules donnant les valeurs de δ en fonction de la température, en me basant sur les pouvoirs rotatoires suivants :

Saccharose (1)	$[\alpha]_D$	$= (+)\ 66°5$.
Glycose anhydre (2)	»	$= (+)\ 52°50 + 0{,}018796\ p + 0{,}000517\ p^2$.
Lévulose anhydre (3)	»	$= (-)\ 101°38 - 0{,}56\ t + 0{,}108\ (p - 10)$.
Sucre interverti	»	$= (-)\ 24°22 - 0{,}28\ t$.
Lactose anhydre (4)	»	$= (+)\ 55°30 + (20 - t)\ 0{,}055$.
Maltose anhydre (5)	»	$= (+)\ 140°375 - 0{,}01837\ p - 0{,}095\ t$.
Dextrine	»	$= (+)\ 195°$.

Valeur du degré saccharimétrique (δ) pour une concentration de 1 à 10 %, la solution étant observée dans un tube de 2 décimètres.

Saccharose. . . .	$(+)\ 1{,}6345$.
Glycose anhydre .	$(+)\ 2{,}065$.
Lévulose anhydre.	$(-)\ 1{,}0719 + 0{,}0058°\ t + 0{,}000038\ t^2$.
Sucre interverti. .	$(-)\ 5{,}05 + 0{,}0648\ (t°-10) + 0{,}0012\ (t-10)^2$.
Lactose anhydre .	$(+)\ 1{,}920 + 0{,}002\ t°$.
Maltose anhydre .	$(+)\ 0{,}775 + 0{,}00052\ t°$.
Dextrine.	$(+)\ 0{,}557$.

Dans le dosage polarimétrique des sucres contenus dans un milieu de culture, il faut se mettre à l'abri de deux causes d'erreur provenant des substances qui entrent dans la composition de ces milieux.

Le carbonate de chaux, même bien lavé et pur, qu'on y ajoute pour maintenir la neutralité du liquide, agit lors de la stérilisation à 120°, sur certains sucres pour modifier leur pouvoir rotatoire.

Une solution de glycose et une solution de lactose, toutes deux à 5 pour cent, sont divisées chacune en deux parties dont l'une est additionnée de carbonate de chaux pur et lavé. Le tout est stérilisé à 120° pendant 10 minutes. Voici, après refroidissement, les déviations observées et exprimées en degrés saccharimétriques (δ).

(1) Mascart.
(2) Tollens, *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.*, 1876, p. 487, 1331.
(3) Jungsfleisch et Grimbert, C.-R., 1888, p. 390.
(4) Schmœger, *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.*, 1880, p. 1915-2130.
(5) Meissl, *Journ. für prakt. Chem.*, (2), XXV, p. 14.

	SANS CRAIE	AVEC CRAIE
	—	—
Glycose.	24δ,7	13δ,8
Lactose.	25δ,2	17

Mais leur pouvoir réducteur n'a pas été modifié.

Quand on opère en milieu additionné de carbonate de chaux il faudra donc préférer le dosage par réduction au dosage optique. Mais il est des circonstances où ce dernier s'impose, par exemple lorsqu'on veut étudier les transformations subies par un sucre ou une matière amylacée sous l'action d'un microbe, dans ce cas on devra stériliser à part le carbonate de chaux et ne le mélanger au liquide sucré qu'après refroidissement.

Une seconde cause d'erreur est due à la présence de la peptone dans le milieu de culture. Cette cause d'erreur peut être réduite au minimum en abaissant la teneur en peptone à 2 grammes par litre lorsque le microbe peut s'en accommoder. Dans tous les cas, on peut facilement se débarrasser de la peptone et d'un grand nombre de substances gênantes par la défécation au moyen du nitrate mercurique, ainsi que l'a conseillé M. Patein (1). Lorsque après addition du réactif mercurique on a soin de neutraliser la liqueur par la soude diluée, on précipite les peptones et le liquide filtré peut être observé au polarimètre ou dosé par la liqueur de Fehling. Toutefois, dans ce dernier cas, il est nécessaire de se débarrasser des dernières traces de mercure au moyen de la poudre de zinc (2).

2° *Dosage par réduction.*

Pour obtenir des résultats aussi exacts que possible et comparables entre eux, il faut se mettre dans les conditions déterminées par Soxlhet (3), c'est-à-dire :

1° Opérer autant que possible sur des solutions ne renfermant pas plus de 1 °/o de sucre réducteur.

2° Etendre toujours la liqueur de Fehling du même volume d'eau.

3° Titrer son réactif cupro-potassique pour chaque espèce de sucre au moyen d'un échantillon de sucre pur et cristallisé et non

(1) Patein et Dufau, De l'emploi du nitrate acide de mercure dans l'analyse des liquides sucrés, *Journ. de pharmacie et de chimie*, 15, p. 221, 1902.

(2) Voir pour la technique *C. R. de la Société de biologie*, 1902, p. 1373.

(3) Soxhlet, *Journal für prakt. Chem.* 1880, XXI, p. 228.

se fier aux rapports donnés entre les divers pouvoirs réducteurs des sucres.

Ici encore, la défécation préalable par le réactif Patein est à recommander. Mais il peut arriver que la quantité de sucre à doser soit très faible ou bien que la réduction, malgré la défécation, se fasse mal ; dans ce cas on donnera la préférence à la méthode indirecte de Lehman modifiée par Maquenne et par moi-même.

Méthode de Lehman (1). — Ce procédé consiste à doser le cuivre contenu dans un volume déterminé de liqueur de Fehling avant et après la réduction et à en déduire la quantité de cuivre réduit. Celle-ci étant connue, il suffit de se reporter à des tables *ad hoc* pour connaître le poids de sucre correspondant.

Le dosage de cuivre est basé sur ce fait que l'iodure de potassium ajouté à un sel cuivrique donne de l'iodure cuivreux en même temps que de l'iode est mis en liberté.

$$2\,SO^4\,Cu + 4\,KI = 2\,SO^4\,K^2 + Cu^2\,I^2 + I^2$$

C'est-à-dire qu'un atome d'iode mis en liberté correspond à un atome de cuivre. En dosant l'iode libre par l'hyposulfite on en déduit le poids de cuivre contenu dans la solution.

Maquenne (2), qui a modifié la marche donnée par Lehman, opère ainsi :

Dans une fiole à fond plat de 125 cc. on introduit 10 cc. de liqueur de Fehling, un volume déterminé de liquide sucré (renfermant moins de 0,050 milligr. de sucre réducteur) et Q. S. d'eau pour un volume total de 30 cent. cub. On chauffe rapidement et on maintient l'ébullition pendant 2 minutes pour la glycose, 4 minutes pour le lactose ou le maltose.

On refroidit ensuite le vase dans un courant d'eau et on y verse *sans filtrer* 20 cc. d'acide sulfurique pur à 50 °/o en volume et 10 cc. d'une solution d'iodure de potassium à 10 °/o. On titre immédiatement l'iode libre à l'aide d'une solution déci-normale d'hyposulfite, en présence d'amidon soluble. Dans ces conditions, le terme de la réaction est assez difficile à saisir. Quand on croit l'avoir atteint la solution se recolore au bout de quelques instants ; je préfère, pour ma part, opérer de la manière suivante : Lorsque l'iode est mis en liberté on ajoute un volume connu d'hyposulfite

(1) Lehman, *Journal de pharmacie et de chimie*, 1897, 6, p. 407.
(2) Maquenne, *Bull. de la Soc. chim.*, XIX, p. 926, 1898.

en excès et l'on dose cet excès au moyen d'une solution déci-normale d'iode. Les résultats sont très satisfaisants.

B. — *Le milieu renferme plusieurs sucres.*

C'est le cas qui peut se présenter quand on fait agir un ferment sur du saccharose, du lactose, du maltose ou de l'empois d'amidon.

Dans le cas du saccharose, le microbe a pu le dédoubler entièrement ou partiellement en glycose et lévulose et il a pu attaquer ces deux derniers sucres très inégalement, de sorte que le milieu renferme les trois sucres en proportions variables.

L'attaque du maltose peut donner lieu à un mélange de maltose et de glycose.

L'empois d'amidon, à son tour, peut renfermer du maltose, de la dextrine et de la glycose.

L'emploi combiné du polarimètre et de la liqueur cupropotassique permet d'exécuter ces séparations. Dans certains cas la phénylhydrazine sera d'un grand secours, par exemple quand il s'agit de savoir si du lactose a été hydrolisé ou non.

1° Saccharose, glycose et lévulose

1° Prendre la rotation initiale de la liqueur, l'exprimer en degrés saccharimétriques en notant avec soin la température, soit δ cette déviation.

2° Doser par réduction le sucre réducteur, l'exprimer en sucre interverti pour 1.000 cc., soit Σ le poids de ce sucre par litre.

3° Intervertir la liqueur au moyen d'un millième d'acide sulfurique à l'ébullition. Doser de nouveau *par réduction* le sucre interverti total, soit I le poids trouvé.

$(I - \Sigma)\ 0,95 = S$ poids de saccharose par litre.

4° Ce poids S divisé par 1,6345 donne la déviation saccharimétrique correspondant au saccharose, soit σ cette déviation.

Soit L le poids de lévulose cherché ;

G celui de glucose. Appelons γ le coefficient saccharimétrique du glucose et λ celui du lévulose, on aura :

$$L + G = \Sigma$$

$$\frac{G}{\gamma} - \frac{L}{\lambda} + \sigma = \delta$$

d'où l'on tire :

$$L = \frac{[\sigma - \delta]\,\gamma\,\lambda + \Sigma\,\lambda}{\gamma + \lambda}$$

équation que l'on peut mettre sous la forme générale :

$$L = \frac{[\sigma - \delta]\,A + B\,\Sigma}{C}$$

dans laquelle les coefficients A, B, C peuvent être calculés une fois pour toutes pour les diverses températures.

Quand il n'y a pas de saccharose dans la liqueur $\sigma = 0$ et l'équation devient :

$$L = \frac{\delta\,A + B\,\Sigma}{C}$$

si le signe de la déviation est gauche (—) ;

$$\text{ou bien } L = \frac{B\,\Sigma - \delta\,A}{C}$$

si le signe de la déviation $\delta = +$

2° Maltose et glycose.

1° Prendre la rotation initiale de la liqueur et l'exprimer en degrés saccharimétriques en notant la température, soit δ cette déviation.

2° Intervertir le maltose et doser la glycose totale soit par le polarimètre soit par réduction. Soit P le poids total de la glycose après interversion.

3° Soit M le poids du maltose cherché, et G celui de la glycose. μ le coefficient saccharimétrique du maltose et γ celui de la glycose, on a :

$$M\,(1.0526) + G = P$$

$$\frac{M}{\mu} + \frac{G}{\gamma} = \delta$$

$$M = \frac{\mu\,\gamma\,\delta - P\,\mu}{\gamma - (1{,}0526)\,\mu}$$

ou $M = \frac{A\,\delta - B\,P}{C}$ dans laquelle A, B, C sont des coefficients variables avec la température et que l'on peut calculer une fois pour toutes.

L'interversion du maltose doit se faire à l'autoclave à 120° avec 2 % d'acide sulfurique pendant 20 minutes. Je me suis assuré par

des expériences préliminaires que la glycose chauffée dans les conditions précitées avec 2 °/₀ d'acide sulfurique ne subit aucun changement dans son pouvoir rotatoire ni dans son pouvoir réducteur.

3° Maltose et dextrine

Premier procédé. — 1° Doser par réduction le maltose existant dans la liqueur = M. 2° saccharifier la dextrine et intervertir le maltose en chauffant une autre partie de la liqueur à 120° pendant 20 minutes après addition de 2 °/₀ d'acide sulfurique. 3° doser la glycose totale formée. Soit G ce poids.

Le poids de la dextrine D sera donné par l'équation :

$$D = [G - M\,(1{,}0526)]\;0{,}9.$$

Deuxième procédé. — 1° Prendre la rotation initiale de la liqueur en notant la température et l'exprimer en degrés saccharimétriques. Soit δ cette déviation ; 2° Doser le maltose par réduction ; soit M le poids de maltose par litre. 3° Soit μ le coefficient saccharimétrique du maltose : $\frac{M}{\mu} = m$ sera la déviation correspondant au maltose.

4° $\delta - m = d$, déviation due à la dextrine.

5° En multipliant cette déviation par le coefficient saccharimétrique de la dextrine, 0,557 on a D le poids de dextrine .

$$d \times 0{,}557 = D$$

Je me suis assuré par un grand nombre d'expériences que ces deux méthodes sont très exactes et comparables entre elles.

Analyse des produits d'une fermentation.

Supposons un liquide ayant la composition que nous avons indiquée page 262 et renfermant par exemple :

Matière sucrée, peptone et eau distillée.

Ce milieu, additionné de carbonate de chaux, a été ensemencé avec une Bactérie qui l'a fait fermenter. Le carbonate de chaux a maintenu la neutralité de la liqueur.

On filtre et on met de côté 400 cc. du liquide. Le reste est utilisé pour les essais suivants :

A. 1° On note la réaction et l'odeur.

2° Sur 20 cc. on dose la chaux par précipitation à l'aide de l'oxalate d'ammoniaque et transformation de l'oxalate de chaux

en chaux vive. On a ainsi le poids de la chaux correspondant aux acides solubles passés en solution.

3° Une autre partie, déféquée par le réactif de Patein, sert à doser le sucre restant ou à déterminer les sucres formés s'il y a eu hydrolyse de l'hydrate de carbone employé.

B. Les 400 cc. mis de côté sont distillés de manière à recueillir 200cc qui renferment les produits volatils neutres, alcools, aldéhydes, etc. Les 200 cc. sont distillés à leur tour pour recueillir finalement 50 cc. qui servent aux observations suivantes :

1° Déterminer la densité du liquide ou son degré alcoolique en notant la température.

2° Le soumettre à l'épreuve du compte-gouttes Duclaux (1).

Lorsque le milieu ne renferme qu'un seul alcool, les deux opérations précédentes permettent de déterminer la nature de l'alcool et de le doser.

3° Rechercher la réaction de l'iodoforme par l'ammoniaque et la solution d'iode, à froid (acétone) et à chaud (alcool éthylique).

4° Rechercher l'acétone par le réactif de Denigès (sulfate mercurique).

5° Rechercher les aldéhydes par la réaction de la fuchsine bisulfitée.

6° Essayer la réaction de Legal (nitro-prussiate de soude additionné de soude puis d'acide acétique).

7° Essayer l'action du liquide sur la liqueur de Fehling : 1° à froid ; 2° à l'ébullition.

8° A 20 cc. du liquide distillé ajouter 20 gouttes de phénylhydrazine et 20 gouttes d'acide acétique cristallisable, puis chauffer une demi-heure au bain marie. S'il se forme à chaud une osazone, la recueillir sur un filtre sans plis, la laver à l'eau d'abord, puis à l'alcool méthylique. On en introduit une parcelle dans un tube à essai avec quelques centimètres cubes d'un mélange à parties égales d'alcool et d'éther et on y verse 3 à 4 gouttes de perchlorure de fer très étendu. Si le liquide éthéro-alcoolique se colore en rouge-sang et laisse déposer, par évaporation spontanée, des aiguilles rouges (osotétrazone du bi-acétyle) on avait affaire à l'ozazone de l'acétylméthylcarbinol.

(1) *Annales de chimie et de physique*. 5e série, XIII, et *Traité de microbiologie*, III, p. 24.

Dans ce cas on peut doser approximativement ce corps en réunissant les liquides distillés et en prélevant 100 cc. auxquels on ajoute 5 cc. de phénylhydrazine et 5 cc. d'acide acétique cristallisable. On chauffe au bain-marie pendant une demi-heure et on recueille l'ozazone sur un filtre taré. Après lavages à l'eau et à l'alcool méthylique on la sèche à 100° et on pèse. Le poids de l'osazone multiplié par 0,33 donne le poids de l'acétylméthylcarbinol renfermé dans 100 cc. de la solution primitive, car j'ai démontré que ce corps passait à la distillation en quantités à peu près constantes.

C. — Quand nous avons distillé les 400 cc. de la liqueur primitive il nous est resté 200 cc. de résidu. On additionne ces 200 cc. d'un léger excès d'acide oxalique et on complète au volume primitif, soit 400 cc., par addition d'eau distillée. On filtre pour se débarrasser de l'oxalate de chaux. On a ainsi en solution à l'état libre, les acides qui existaient primitivement à l'état de sels de chaux, plus une petite quantité d'acide oxalique.

1° On mesure 110 cc. de liquide filtré et on le soumet à la distillation fractionnée par la méthode de Duclaux (1). On détermine ainsi qualitativement et quantitativement les acides volatils.

2° Le reste du liquide est neutralisé par le carbonate de chaux pour éliminer l'acide oxalique, filtré et concentré à un faible volume, puis épuisé par l'éther après addition d'acide chlorhydrique. L'éther est distillé et le résidu chauffé au bain-marie pour chasser les acides volatils. Le résidu est constitué par les acides fixes, le plus souvent par de l'acide lactique ou de l'acide succinique ou par un mélange des deux. Malheureusement il n'existe pas encore de procédé rigoureux permettant de le doser quand ils sont mélangés. On devra donc se contenter de les caractériser et d'en signaler l'existence. Dans ce cas, le résidu éthéré forme une masse sirupeuse renfermant des cristaux d'acide succinique. Ces cristaux lavés rapidement à l'éther et désséchés à 100° fondent à 180°.

Le résidu débarrassé de la plus grande partie de l'acide succinique est étendu d'eau et porté à l'ébullition pour détruire la lactone qui se forme pendant la concentration, puis neutralisé par du carbonate de zinc. La solution de lactate de zinc est examinée au pola-

(1) *Annales de chimie et de physique*, 6e série, VIII, p. 542, et *Traité de microbiologie*, III, p. 384.

rimètre. On note la déviation s'il y a lieu, en se rappelant que l'acide lactique *droit* donne un sel de zinc *gauche* et réciproquement.

En évaporant ensuite un volume donné de la solution et en y dosant le zinc on en déduit le poids du lactate de zinc et de là son pouvoir rotatoire.

On peut compléter ces essais en faisant cristalliser le lactate de zinc et en examinant ses cristaux au microscope; et en dosant l'eau de cristallisation qu'ils renferment.

Les lactates actifs renferment 2 molécules d'eau de cristallisation, soit 12,90 pour cent, et les lactates inactifs 3 molécules, soit 18,18 pour cent.

La nature et le poids des acides volatils étant connus, on en déduit par le calcul la quantité de chaux à laquelle ils étaient combinés. En retranchant cette valeur du poids total de chaux existant dans la liqueur primitive, on obtient le poids de chaux combinée aux acides fixes.

On a ainsi en mains les données nécessaires pour établir le bilan de la fermentation à l'exception des gaz dégagés.

Pour étudier ceux-ci on est obligé d'employer un dispositif spécial, car il n'est pas possible d'utiliser à cet effet les fermentations du volume d'un demi-litre dont il vient d'être question.

On peut ensemencer seulement 100 à 125 cc. de milieu sucré en employant le dispositif que j'ai décrit à propos du dosage des gaz dans la dénitrification (page 273).

Ou bien, si l'on veut faire un dosage rigoureux, opérer de la manière suivante :

Dans un ballon à col étroit de 250 cc. on introduit 20 à 50 cc. de la solution sucrée préalablement titrée ; après avoir fermé l'extrémité du col au moyen d'un tampon de coton, on stérilise à l'autoclave. Le liquide refroidi ensemencé par les procédés ordinaires, le col du ballon est légèrement étranglé au-dessus du coton, celui-ci, flambé, est repoussé jusqu'à l'étranglement, puis l'extrémité libre du col est étirée à la lampe. Le ballon ainsi disposé est porté dans une étuve réglée à 36° et est relié à une trompe à mercure de Schlœsing au moyen d'un mince tube de plomb, scellé au mastic Golaz, et pénétrant dans l'étuve par une étroite ouverture. On fait le vide, puis dès que la fermentation se déclare

on recueille chaque jour, au moyen de la trompe de Schlœsing, les gaz dégagés et on les analyse par les procédés ordinaires.

Cas du tartrate de chaux

La marche générale que je viens de donner, s'appliquant surtout aux hydrates de carbone, doit subir certaines modifications quand on veut l'utiliser pour étudier les produits de décomposition des sels organiques tels que les tartrates, les malates, etc.

Nous prendrons comme exemple le tartrate de chaux qui se décompose sous l'action du *B. tartricus* en acides acétique et succinique.

Il ne faudrait pas se contenter de doser ici la chaux en solution, laquelle provient des acétate et succinate de chaux formés pendant la fermentation et de déduire par le calcul à combien de tartrate de chaux correspond le poids trouvé. En opérant ainsi on s'exposerait à une grave erreur, car une bonne partie de la chaux du tartrate est retenue à l'état de carbonate de chaux insoluble. Il est donc nécessaire de tenir compte de cette circonstance dans l'analyse.

D'autre part, quand on emploie, ainsi que je l'ai fait souvent, une solution de sels ammoniacaux comme milieu nutritif, il ne faut pas oublier que ces sels ammoniacaux ont été, lors de la stérilisation, transformés en tartrate d'ammoniaque et ont fermenté comme tels. Il convient donc, pour laisser à l'expérience toute sa signification, de les transformer par le calcul en sels de chaux correspondants, sinon il arriverait parfois que la chaux en solution serait de beaucoup inférieure à la quantité correspondant à l'acide acétique trouvé. D'ailleurs, un exemple fera mieux saisir la marche générale qu'il convient de suivre :

15 grammes de tartrate de chaux sont placés dans un ballon avec 250 cc. de la solution suivante :

Sulfate d'ammoniaque.	2 gr.
Phosphate d'ammoniaque	2 gr.
Eau distillée	1000 gr.

Le tout ensemencé après stérilisation est mis à l'étuve à 36°. Un dégagement régulier de gaz commence dès le lendemain. Le contenu du ballon est analysé au bout de 27 jours.

On sépare par filtration le tartrate non attaqué et dans le liquide

filtré on dose la chaux en solution : 100 cc = 0 gr. 505 CaO. Mais il faut tenir compte des sels ammoniacaux introduits.

Le sulfate et le phosphate d'ammoniaque sont tous deux anhydres; ils ont pour poids moléculaires 132.

La solution nutritive renferme par 100 cc. 0 g. 20 de chacun de ces sels soit 0 gr. 40 en tout, lesquels représentent 0 gr. 109 AzH^4.

On sait que 2 molécules d'$Az H^4$ tiennent la place d'une seule molécule de calcium, on aura donc :

$$\frac{(Az H^4)^2}{Ca} = \frac{36}{40} = \frac{0,109}{x}; \; x = 0,1211$$

ce qui correspond à 0,169 CaO qu'il faudra ajouter aux 0,505 trouvés, soit en tout 0,169 + 0,505 = 0,674.

Les acides volatils sont déterminés et dosés par la méthode de Duclaux. On trouve ainsi que 100 cc. renferment 0,871 d'acide acétique, ce qui correspond à 0,406 de CaO. En retranchant ce chiffre de la quantité totale de chaux trouvée en solution, on obtient : 0,674 — 0,406 = 0,268 CaO combinée à l'acide succinique; ce qui représente 0 g. 574 d'acide succinique.

Mais comme une partie de la chaux du tartrate de chaux détruit reste à l'état de carbonate de chaux insoluble on ne peut connaître le poids de tartrate décomposé en dosant seulement la chaux passée en solution.

Il faut de toute nécessité déterminer la quantité de carbonate de chaux formé. A cet effet, le résidu du liquide de culture filtré est desséché à 100° ; on en prélève un poids déterminé qu'on calcine au rouge d'abord, puis au chalumeau à gaz pour le convertir en chaux vive que l'on pèse.

Soit K la proportion pour cent de chaux existant dans le résidu.

On sait que le carbonate de chaux renferme 56 pour cent de chaux, CaO, et que le tartrate anhydre n'en contient que 29,78.

Soit c et t la chaux correspondant au carbonate et au tartrate. On a : $c + t = K$.

Soit C le poids du carbonate et T le poids du tartrate contenu dans 100 parties du mélange :

$$\frac{c}{C} = \frac{56}{100}; \text{ d'où } c = \frac{56\ C}{100} \text{ et } \frac{t}{T} = \frac{29,78}{100}; \text{ d'où } t = \frac{29,78\ T}{100}$$

d'où enfin : $0,56\ C + 0,2978\ T = K$

et $C + T = 100$

équation d'où l'on tire la valeur de C et de T.

$$T = (56 - K)\ 3,813$$
$$C = (K - 29,78)\ 3,813$$

Dans l'exemple que nous avons choisi, 0 gr. 130 du résidu, desséché à 100°, ont donné 0 gr. 051 CaO, soit K = 39,4 %. En appliquant la formule précédente on voit que le résidu renfermait 63,3 pour cent de carbonate de chaux.

Les 15 grammes de tartrate de chaux *hydraté* que nous avons mis dans notre ballon au commencement de l'expérience représentent seulement 0 gr. 845 de tartrate anhydre et 3 gr. 230 de chaux.

Nous avons remarqué que 100 cc. du liquide filtré renfermaient 0,674 CaO, soit 1 gr. 685 pour 250 cc.

Si nous retranchons ces 1 gr. 685 de chaux de celle qui correspond à la totalité du tartrate mis en œuvre, soit 3 gr. 230, il nous reste 1 gr. 545 pour la chaux combinée à l'acide tartrique et à l'acide carbonique dans le résidu insoluble.

Or nous venons de voir que le tartrate et le carbonate de chaux se trouvent dans ce résidu dans la proportion de 63,3 pour cent pour le premier et de 36,7 % pour le second ; nous avons ainsi toutes les données pour calculer les proportions dans lesquelles se partageront les 1 gr. 545 de CaO entre l'acide tartrique et l'acide carbonique, soit ici 0,739 pour le premier et 0,806 pour le second.

Transformons tous ces résultats en tartrate hydraté et rapportons-les à 100 grammes : nous aurons :

Tartrate non attaqué	29,09	%
» transformé en sels solubles	39,06	70.81.
» » du carbonate de chaux.	31,75	
Acide acétique produit	14,51	
» succinique	9,40	

Nous pouvons rapporter les produits de la fermentation au tartrate décomposé ; dans ce cas nous voyons que les 70 gr. 81 % du tartrate consommé ont donné

Tartrate transformé en sels solubles	55,96 %
» » en carbonate	44,84
Acide acétique	20,48
» succinique	13,16

QUATRIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

La marche générale que je viens de tracer permet à la fois d'étudier les principales fonctions biologiques des microbes et d'en déduire les éléments d'une classification rationnelle. Elle donne, je le sais, à la partie chimique une importance qui paraîtra peut-être exagérée ; c'est cependant la seule méthode capable de fournir des renseignements de quelque précision, à la condition, je ne saurais trop le répéter, de s'astreindre à suivre une technique fixée une fois pour toutes.

Pour le bactériologiste qui vient de découvrir une espèce nouvelle c'est un devoir de faire subir à cette espèce la plus grande partie des épreuves que je viens d'énumérer. C'est le seul moyen qu'il ait d'établir un signalement durable.

Quand il s'agit simplement d'identifier une espèce déjà décrite, quelques réactions bien choisies suffiront.

Mais l'étude plus approfondie des fonctions biologiques d'une Bactérie nécessitera de longues et patientes recherches appuyées sur des analyses minutieuses, sur des manipulations délicates dont la pratique ne s'acquiert pas dans les laboratoires de bactériologie. Aussi, quoique la marche générale que je propose prévoie les principaux problèmes à résoudre, je n'ai voulu qu'en esquisser le programme sans entrer plus avant dans le fond du sujet.

Dans les exemples qui suivent, je me propose de montrer le parti que j'ai tiré de l'étude biochimique de certaines Bactéries. La plupart des mémoires cités ont été publiés soit dans les Comptes-Rendus de l'Académie des sciences, soit dans ceux de la Société de biologie ou dans les Annales de l'Institut Pasteur, je ne ferai que les résumer brièvement en insistant seulement sur les faits qui viennent appuyer la thèse que je soutiens.

A. — Bacillus orthobutylicus (1).

Biologie générale. — J'ai déjà cité à la page 241 une partie de ce travail dans lequel j'ai établi, un des premiers, que la durée d'une fermentation, la réaction du milieu, l'âge et l'éducation de la semence amènent des perturbations profondes dans le rapport et la nature des produits formés. Je ne reviendrai pas sur ces faits que M. Duclaux a longuement commentés dans le quatrième volume de son Traité de Microbiologie (2). Je veux montrer seulement que l'étude chimique du *Bacillus orthobutylicus* permet seule de le différencier des autres ferments butyriques *anaérobies*, dont il s'éloigne peu par ses caractères morphologiques.

Diagnostic différentiel. — Soit un ferment butyrique *anaérobie*, on commence par l'ensemencer dans une solution nutritive de lactate de chaux (page 262) :

A. Il y a fermentation : *Vibrion butyrique* (Pasteur).

B. Il n'y a pas de fermentation. On l'ensemence dans de l'empois d'amidon rendu nutritif par addition de peptone :

(a) Pas de fermentation : *Bacillus butylicus*, Fitz (3).

(b) Fermentation : on analyse les produits formés ; on obtient :

1° De l'alcool amylique : *B. amylozyme*, Perdrix (4).

2° Pas d'alcool amylique, mais :

(*a*) De l'alcool butylique normal sans alcool éthylique : *Bacillus orthobutylicus*, Grimbert (5).

(*b*) De l'alcool isobutylique et de l'alcool éthylique : *Bacillus butyricus*, Botkin (6).

Ces deux derniers pourraient prêter à confusion, mais le *B. orthobutylicus*, en dehors de l'alcool butylique normal, donne exclusivement de l'acide acétique et de l'acide butyrique normal et *ne croît pas sur gélatine.*

(1) L. Grimbert, *Fermentation anaérobie produite par le* Bacillus orthobutylicus ; *ses variations sous certaines influences biologiques.* Thèse de doctorat ès-sciences, Paris, 1893.

(2) Duclaux, *Traité de Microbiologie*, IV, chapitre IV, p. 58 à 76.

(3) Fitz, Ueber Spaltpilzgœhrungen. *Berichte d. chem. Ges.* t. IX, X, XI et XIII.

(4) Perdrix, Sur les fermentations produites par un Bacille anaérobie de l'eau, *Annales de l'Institut Pasteur*, V, p. 287, 1891.

(5) L. Grimbert. *Loco citato.*

(6) Botkin. *Archiv für Hygiene*, XI, p. 421, 1892.

Le *Bacillus butyricus* de Botkin pousse sur gélatine qu'il liquéfie et donne sur l'amidon, en même temps que les alcools isobutylique et éthylique, des acides acétique, propionique, butyrique, formique et lactique inactif.

Je ne parle pas ici du *Bacillus saccharobutyricus* de Klecki (1) qui se rattache à ce groupe, parce que son étude biochimique est trop peu avancée pour permettre d'en déduire un caractère bien tranché.

B. — Pneumobacille de Friedländer (2).

Biologie générale. — Brieger (3), le premier en 1883, constata que le Pneumobacille de Friedländer ensemencé dans de la glycose ou du saccharose produisait de l'acide acétique avec un peu d'acide formique et de l'alcool éthylique.

En 1891, P. Frankland (4) et ses élèves, reprenant l'étude des fermentations produites par ce Bacille, cherchèrent à établir les équations de ces fermentations par des analyses quantitatives. Le Pneumobacille ayant servi à ces expériences provenait de l'Institut d'hygiène de Berlin. Il faisait fermenter les solutions de glycose, saccharose, lactose, maltose, raffinose, dextrine et mannite. Il était sans action sur la dulcite et la glycérine.

Les produits principaux de la fermentation de la glycose et de la mannite étaient l'alcool éthylique et l'acide acétique avec une petite proportion d'acide formique et des traces d'acide fixe, probablement d'acide succinique.

J'ai repris de mon côté les expériences de P. Frankland avec un Pneumobacille de Friedländer provenant de l'Institut Pasteur et présentant tous les caractères morphologiques attribués à cet organisme.

En suivant les méthodes et les procédés d'analyse précédemment décrits, je suis arrivé à des résultats tout à fait différents de ceux des auteurs anglais.

(1) Klecki, *Centralblatt für Bakteriol.*, 2. Abtheil., II, p. 169, 1896.

(2) L. Grimbert, Sur les fermentations provoquées par le Pneumobacille de Friedländer, *C. R. de l'Académie des sciences*, 11 nov. 1895, et *Annales de l'Institut Pasteur*, IX, p. 840 (premier mémoire).

(3) Brieger, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, VIII, p. 306 et IX, p. 1.

(4) P. Frankland, A. Stanley et W. Frew, *Journal of the chemical Society*, LIX, p. 253, 1891.

Non seulement le Bacille de l'Institut Pasteur fait fermenter la glycose, le galactose, l'arabinose, la mannite, le saccharose, le maltose, le lactose, le raffinose, la dextrine et l'amidon, mais encore *il attaque énergiquement la glycérine et la dulcite.*

Les produits de la fermentation varient avec la nature du sucre employé, ce sont l'alcool éthylique, l'acide acétique, l'acide *lactique gauche* et l'acide succinique.

Mais, tandis que la glycose, le galactose, l'arabinose, la mannite et la glycérine donnent de l'acide lactique gauche à l'exclusion de l'acide succinique, le saccharose, le lactose et le maltose donnent à la fois de l'acide succinique et de l'acide lactique gauche, tandis que la dextrine, les pommes de terre et la dulcite ne produisent que de l'acide succinique sans trace d'acide lactique.

L'acide acétique se rencontre toujours à l'état pur, sans mélange d'acide formique ou d'acide propionique.

Quant à l'alcool éthylique, moins abondant que les autres corps formés, il fait quelquefois défaut comme dans les fermentations de pommes de terre ou d'arabinose, ou bien il n'existe qu'à l'état de traces comme avec la glycose, le saccharose ou le maltose.

J'insisterai particulièrement sur ce fait que la mannite fournit de l'acide lactique gauche, tandis que son isomère la dulcite donne de l'acide succinique.

Nous avons donc sous les yeux l'exemple rare d'un ferment donnant des produits variables avec la nature du sucre qu'il détruit.

Sans doute, il est prématuré de chercher à établir un rapprochement quelconque entre la fonction chimique ou la formule de constitution des hydrates de carbone employés et les produits de leur fermentation ; toutefois, je ferai remarquer que l'acide lactique gauche a été fourni exclusivement par les hydrates de carbone possédant la fonction alcool (à l'exception de la dulcite), quel que soit le nombre de leurs atomes de carbone ; que les sucres en C^{12} ont donné un mélange d'acide lactique et d'acide succinique, et que les hydrates de carbone d'un poids moléculaire élevé (amidon, dextrine) ont donné seulement de l'acide succinique.

Le Pneumobacille que j'ai eu entre les mains se différencie donc de celui de Frankland par la propriété qu'il a d'attaquer la glycérine et la dulcite, mais aussi par la nature des produits qu'il forme

et par l'énergie de son action, comme le montre l'exemple suivant, se rapportant à une fermentation de 100 gr. de mannite examinée au bout de 36 jours.

	L. Grimbert	P. Frankland
	—	—
Alcool éthylique	11,40	6,85
Acide acétique	10,60	4,98
Acide lactique gauche	58,63	0

Il faut donc en conclure qu'il existe au moins deux Pneumobacilles de Friedländer morphologiquement semblables mais différant entre eux par leurs actions fermentatives.

Un peu plus tard (1), j'ai complété ces premières données en étudiant un certain nombre de Bacilles de Friedländer rencontrés dans les eaux. L'un d'eux provenait de l'eau d'un village de Bretagne, où sévissait la fièvre typhoïde, et dans laquelle je n'ai pu déceler non seulement le Bacille d'Eberth, mais même un seul Coli-bacille, ce qui peut paraître étonnant. Les autres avaient été isolés d'eaux minérales naturelles telles qu'on les trouve dans le commerce.

Tous ces Bacilles, au nombre de quatre, attaquaient la glycérine, mais deux d'entre eux étaient sans action sur la dulcite. Ces derniers, néanmoins, appartenaient bien au groupe du Pneumobacille de l'Institut Pasteur, car ensemencés en même temps que les deux autres dans des milieux à base de glycérine ou de lactose, ils donnaient les mêmes produits que le Bacille type, tenant compte ainsi de la nature du sucre fourni.

Diagnostic différentiel. — Il convient donc de distinguer dans les Pneumobacilles de Friedländer deux groupes bien distincts ayant respectivement pour type, l'un le Bacille de Frankland, l'autre celui que j'ai étudié, mais ce dernier groupe se subdivise à son tour en deux variétés caractérisées par leur action sur la dulcite.

		Glycérine	Dulcite
		—	—
Frankland.		0	0
Grimbert.	1re variété. . . .	+	+
	2e variété	+	0

(1) L. Grimbert, Recherches sur le Pneumobacille de Friedländer (deuxième mémoire). *Annales de l'Institut Pasteur*, X, p. 708, 1896.

Il sera bon toutefois de ne pas s'en tenir à cette simple constatation et de procéder à un ensemencement sur des milieux donnant des produits *différents*, par exemple sur la mannite et la dextrine.

Avec la mannite, le microbe de Frankland ne donne que de l'alcool éthylique et de l'acide acétique en petite quantité. Celui que j'ai étudié, quelleque soit sa variété, donne en outre de l'acide lactique *gauche* en abondance; de plus sur la dextrine l'acide lactique est remplacé par de l'acide succinique.

Depuis la publication de ces recherches, la méthode de différenciation que je viens de décrire a permis à Nicolle et Hébert (1) de Rouen, de retrouver, sur 12 échantillons de Bacilles de Friedländer isolés d'angines membraneuses et de l'eau, 4 fois le Bacille de Frankland et 8 fois celui de notre deuxième variété (n'attaquant pas la dulcite.) Nous allons voir que c'est également à cette variété qu'appartient le Bacille qu'on désigne encore sous le nom de *Bacillus lactis aerogenes*.

C. — Identité du *Bacillus lactis aerogenes* et du Pneumobacille de Friedländer (en collaboration avec M. G. Legros) (2).

Le *Bacillus lactis aerogenes*, découvert par Escherisch dans les selles des nouveau-nés, retrouvé depuis dans la fermentation spontanée du lait (Flügge), dans certaines affections urinaires, péritonéales et méningées, possède-t-il une individualité propre ? Doit-on le considérer comme une espèce distincte du Pneumobacille de Friedländer avec lequel il offre tant de points de ressemblance ?

Denis et Martin (3), s'appuyant sur les caractères morphologiques des deux espèces et sur les résultats de l'inoculation aux animaux, concluent à l'identité ; d'autre part, les auteurs qui la repoussent ne donnent comme éléments de différenciation que des caractères secondaires ou inconstants.

Il nous a donc paru intéressant de reprendre la question en complétant l'étude de ces Bacilles par celles de leurs propriétés

(1) Ch. Nicolle et A. Hébert, *Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 67 et 80, 1897, et *Société de biologie*, 1898, p. 916.

(2) L. Grimbert et G. Legros, *C.-R. de l'Académie des sciences*, 21 mai 1900.

(3) Denis et Martin, *La Cellule*, 1893, p. 261.

biochimiques, et nous avons suivi dans ce but la marche générale exposée dans les chapitres précédents.

Nos recherches ont porté sur quatre Bacilles aérogènes dont trois isolés de fermentations spontanées du lait ; le quatrième dû à l'obligeance de M. Kayser (1) était le Bacille *f* de ses travaux sur la fermentation lactique ; il provenait du laboratoire de Nencki.

Ces quatre Bacilles nous ont donné pour chaque épreuve les mêmes résultats, à l'intensité près. Les observations suivantes s'appliquent donc à chacun d'eux en particulier.

Biologie générale. — Nos Bacilles sont immobiles, ils mesurent de 1,5 μ à 2 μ ; ne se colorent pas par la méthode de Gram, ne donnent pas de spores et offrent des capsules dans le pus et le sang des animaux inoculés. Ils sont anaérobies facultatifs.

On peut les cultiver sur les milieux usuels. Sur gélatine en plaques, colonies saillantes, arrondies, à reflets de porcelaine ; sur gélatine en piqûre, culture en forme de clou ; la gélatine n'est pas liquéfiée. Sur gélose, trace glaireuse et visqueuse. Les cultures sur eau peptonée à 3 p. 100 ne donnent pas d'indol. L'albumine cuite n'est pas modifiée. Le lait est assez rapidement coagulé par acidification, sans attaque de la caséine.

Les nitrates sont transformés partiellement en nitrites sans dégagement gazeux dans l'eau peptonée, et avec dégagement d'azote et de CO^2 en présence des matériaux amidés du bouillon, si l'on opère en culture anaérobie. Ce sont des ferments dénitrifiants indirects, tels que je les ai définis plus haut (page 258).

Action sur les hydrates de carbone.

Nos Bacilles aérogènes font fermenter la glycose, le saccharose, le lactose, la dextrine, la mannite et la glycérine. *Ils sont sans action sur la dulcite.* — Ils donnent avec ces hydrates de carbone de l'alcool éthylique, de l'acide acétique, de l'acide lactique *gauche* et de l'acide succinique : mais, de même que le Bacille de Friedländer, ils semblent faire un choix entre les divers sucres offerts à leur activité. C'est ainsi que la glycose, la mannite et la glycérine ne donnent pas ou ne donnent que des traces d'acide succinique avec des quantités notables d'acide lactique *gauche*, tandis que la dextrine, au contraire, ne fournit que de l'acide succi-

(1) Kayser, *Annales de l'Institut Pasteur*, VIII, p. 737, 1894.

nique à l'exclusion de l'acide lactique, et que le saccharose et le lactose produisent à la fois de l'acide lactique et de l'acide succinique. L'acide acétique se rencontre dans toutes les fermentations ainsi que l'alcool éthylique; mais pour ce dernier, les quantités recueillies varient avec la nature du corps fermentescible. Or, ce sont là précisément les caractères de la deuxième variété du Bacille de Friedländer que nous avons décrit précédemment. Dès lors, tombent toutes les barrières qu'on a voulu élever entre les deux organismes, et à moins de vouloir s'appuyer sur les caractères sans valeur, comme la teinte plus ou moins foncée que prennent certaines cultures sur gélatine, on est bien forcé de reconnaître que le Bacille décrit sous le nom de Bacille lactique aérogène n'est autre chose que le Bacille de Friedländer et que tous deux n'ont droit qu'à un nom unique.

Bien entendu, l'espèce Friedländer peut comporter un certain nombre de variétés, nous en avons déjà signalé deux, mais ces variétés, sous la dépendance de l'éducation de la semence, présentent un ensemble de propriétés communes suffisamment nettes pour permettre de les réunir en un groupe unique dont les caractères sont :

1° L'immobilité ; 2° la présence de capsules dans le sang des animaux inoculés ; 3° la non liquéfaction de la gélatine ; 4° la non production d'indol ; 5° l'action énergique sur les hydrates de carbone donnant naissance à de l'alcool éthylique, à de l'acide acétique, et suivant la nature des sucres à de l'acide lactique ou à de l'acide succinique, ou bien encore à un mélange des deux.

D. — Le Bacillus tartricus.

Le *B. tartricus* que j'ai isolé en 1897 avec la collaboration de M. L. Ficquet (1) est un ferment actif des tartrates et des hydrates de carbone qui se différencie nettement par ses propriétés biologiques des espèces étudiées autrefois par Pasteur (2), Fitz (3), Gautier (4) et Kœnig (5).

(1) L. Grimbert et L. Ficquet, Sur un nouveau ferment des tartrates, *C. R. de la Soc. de biologie*, nov. 1897.

(2) Pasteur, Etudes sur la bière, Paris, 1876, p. 274.

(3) A. Gautier, *C. R.* 1878, 86, p. 1338.

(4) Fitz, *Ber. d. deutsch. Gesell.* 12, p. 475.

(5) Kœnig, *Ber. d. deutsch. Gesell.* 1881, p. 211, 1882, p. 172.

Le ferment tartrique de Pasteur est un long Bacille anaérobie, doué de mouvements flexueux et décomposant le tartrate de chaux en acides propionique, acétique et carbonique sans dégagement d'hydrogène.

Celui de A. Gautier, non isolé à l'état d'espèce définie, donnait de l'acide tartronique, avec le tartrate de potasse.

Dans ses fermentations de tartrates de chaux, Fitz obtenait surtout de l'acide acétique accompagné de petites quantités d'alcool ordinaire, d'acide butyrique et d'acide succinique.

L'organisme de Kœnig est un ferment propionique du tartrate de chaux qui donne avec le tartrate d'ammoniaque de l'acide formique, de l'acide acétique et de l'acide succinique.

Aucun des auteurs cités n'a eu entre les mains de semence pure. En effet, tantôt les ballons étaient abandonnés à eux-mêmes jusqu'à ce que le hasard se chargeât de les ensemencer, tantôt ils étaient additionnés d'un liquide organique quelconque en putréfaction, ou bien encore, selon la méthode de Fitz, de bouse de vache. Il en résulte que divers organismes, capables d'attaquer les tartrates, ont pu vivre ensemble dans le même milieu et agir parallèlement ou bien se prêter un mutuel concours pour réaliser de ces associations microbiennes parfois si fécondes en surprises.

Notre *Bacillus tartricus* cultivé à l'état de pureté, est un anaérobie facultatif.

Morphologie et biologie. — Petit Bacille de 1 à 2 μ de long, doué de mouvements très vifs, se décolorant par la méthode de Gram.

Sur bouillon : trouble rapide, voile grumeleux se disloquant facilement ; dépôt muqueux ; pas d'odeur.

Sur plaques de gélatine : colonies ressemblant à celles du Colibacille, à bords irréguliers peu découpés ; liquéfaction très lente ne commençant que du 10e au 15e jour.

Sur gélatine en piqûre : trace finement granuleuse. Au point d'inoculation se développe une colonie irrégulière, aplatie, au dessous de laquelle se forme une zone nébuleuse, point de départ de la liquéfaction future.

Sur gélose : trace mince, glacée, transparente qui s'étale en quelques jours sur toute la surface de la gélose.

Sur pommes de terre : trace jaunâtre en saillie ; la pomme de terre prend une coloration foncée en vieillissant.

Sur peptone : pas d'indol.

Lait coagulé vers le 8e jour avec coagulum granuleux.

Empois d'amidon non liquéfié.

Albumine cuite non attaquée.

Nitrates transformés en nitrites sans dégagement gazeux (ferment dénitrifiant indirect).

Action sur les hydrates de carbone. — Il fait fermenter un grand nombre d'hydrates de carbone, notamment : la glycose, le saccharose, le maltose, le lactose, la dextrine et la mannite.

Dans ces fermentations il se produit, outre les acides acétique et succinique, une petite quantité d'alcool éthylique, de l'acide lactique gauche et enfin un corps qui n'avait pas encore été signalé parmi les produits bactériens, et que j'ai pu identifier avec l'acétyl-méthyl-carbinol. $CH^3 - CO - CHOH - CH^3$.

Voici comment je suis arrivé à le mettre en évidence :

Une solution de glycose ou de saccharose à 3 pour 100 additionnée d'un millième de peptone et d'une petite quantité de carbonate de chaux est ensemencée après stérilisation avec une culture pure de *B. tartricus* et mise à l'étuve à 37°. Quand la fermentation cesse de manifester, vers le 15e jour, on filtre. Le liquide filtré, qui a une réaction sensiblement neutre, est distillé. Une petite quantité d'alcool éthylique passe dans les premières portions de la distillation. Le liquide aqueux que l'on recueille ensuite offre les caractères suivants :

Il réduit la liqueur de Fehling à froid. Il ne recolore pas la solution de fuchsine bisulfitée.

Il ne donne pas d'iodoforme à froid quand on le traite par une solution d'iodure de potassium ioduré et l'ammoniaque.

Il ne donne pas de précipité à chaud avec la solution de sulfate mercurique de Denigès.

Il donne la réaction de Legal.

Enfin, chauffé au bain-marie bouillant avec de l'acétate de phénylhydrazine il donne une osazone abondante, cristallisée, d'un jaune pâle. Cette osazone est insoluble dans l'eau et dans la plupart des dissolvants, à peine soluble dans l'alcool, plus soluble dans l'acide acétique cristallisable et dans le benzène. Cristallisée dans l'acide acétique elle fond à 243°. Sa composition élémentaire correspond à la formule : $C^{16} H^{18} Az^4$.

L'ensemble de ses caractères permetde l'identifier avec l'osazone du biacétyle :

$CH^3 - C = Az - Az\,H.\ C^6\,H^5 - C = Az - Az\,H.\ C^6\,H^5 - C\,H^3.$

En effet, en oxydant cette osazone au moyen du bichromate de potasse en solution acétique étendue, d'après la méthode de von Pechmann (1) j'ai obtenu *l'osotétrazone* cristallisée correspondante.

Un autre procédé plus simple permettant de mettre la formation de cette ozotétrazone en évidence, consiste à traiter une trace de l'osazone par quelques gouttes de perchlorure de fer très étendu en présence d'un mélange d'alcool et d'éther. Le liquide éthéro-alcoolique se colore aussitôt en rouge foncé et laisse déposer par évaporation les cristaux en aiguille de l'ozotétrazone (p. 281). C'est la réaction caractéristique de l'osazone des dicétones α.

$$\begin{array}{l} CH^3 - C = Az - Az - C^6\,H^5 \\ \qquad\ \ | \qquad\qquad\ \ | \\ CH^3 - C = Az - Az - C^6\,H^5 \end{array}$$

Brute, elle fond à 170° ; après cristallisation dans l'alcool elle se présente sous la forme de longues aiguilles rouge foncé, légères et feutrées, fondant à 151°, insolubles dans l'eau, solubles dans l'alcool et dans l'éther. Traitée à chaud par un excès de phénylhydrazine, l'osotétrazone régénère l'osazone primitive fondant à 243°.

L'osazone obtenue est donc bien identique avec l'osazone du biacétyle. Devons-nous en conclure à la présence du biacétyle dans le liquide distillé ?

Nullement, car deux corps différents peuvent fournir cette osazone :

1° Le biacétyle $CH^3 - CO - CO - CH^3$

2° L'acétyl-méthylcarbinol $CH^3 - CO - CHOH - CH^3$.

Corps obtenu par von Pechmann (2) dans la réduction du biacétyle en liqueur acide.

Or, le biacétyle ne réduit pas la liqueur cupropotassique et s'altère rapidement au contact des alcalis en se transformant en *para-xyloquinone*.

L'acétyl-méthylcarbinol, au contraire, réduit la liqueur de Fehling, *même à froid*.

C'est précisément ce que fait notre liquide distillé. De plus

(1) Von Pechmann, *Berichte der deutschen chem. Ges.*, XXI, p. 2751.
(2) Von Pechmann, *D. chem. Ges.*, XXIII, p. 2421.

chauffé au réfrigérant à reflux, avec un léger excès de soude pendant une demi-heure, il ne se colore que faiblement et fournit à la distillation une liqueur réduisant le réactif cupropotassique et donnant avec la phénylhydrazine la même osazone. Il ne contient donc pas de biacétyle et l'osazone qu'il fournit ne peut dériver que de l'acétyl-méthylcarbinol.

Malheureusement ce corps ne se forme qu'en quantité trop faible pour pouvoir être isolé en nature. Il est entraîné mécaniquement par la vapeur d'eau, car on le rencontre en proportion à peu près égales dans les premières et dans les dernières parties de la distillation.

Quoi qu'il en soit, j'ai toujours constaté la présence de ce corps dans les fermentations de glycose, de saccharose, de lactose et de mannite, mais non pas dans celles de glycérine, de dextrine ou de tartrate de chaux.

Il serait intéressant de rechercher si d'autres Bactéries jouissent de la propriété de donner de l'acétylméthylcarbinol avec les sucres. Je n'ai examiné dans ce but que trois espèces dont l'action sur la glycose est bien connue : *Bacillus coli*, le Bacille d'Eberth et le Bacille de Friedländer et je n'ai obtenu que des résultats négatifs. Mais si ces expériences sont trop peu nombreuses pour qu'on puisse en conclure que le *B. tartricus* possède seul cette propriété, elle n'en constitue pas moins un moyen précieux de diagnostic de cette espèce.

Action sur les tartrates. — Le *B. tartricus* attaque énergiquement le tartrate de chaux et le tartrate d'ammoniaque en donnant seulement de l'acide succinique et de l'acide acétique sans traces d'alcool ni d'acétylméthylcarbinol. Il se dégage en outre de l'acide carbonique et de l'hydrogène.

J'ai dit plus haut (page 285) comment il convient d'analyser les produits de ces fermentations ; je me contenterai de signaler ici quelques faits d'ordre biologique qui découlent de mes expériences (1).

Le *B. tartricus* attaque le tartrate de chaux toutes les fois qu'on lui fournit un aliment azoté, mais il est peu exigeant sur la nature de l'azote alimentaire. Il se contente très bien d'une solution

(1) L. Grimbert, *Volume jubilaire de la Société de biologie*. Paris, Masson, 1899, p. 49.

renfermant par litre 0 gr. 50 de sulfate et 0 gr. 50 de phosphate d'ammoniaque.

Quand on remplace l'azote ammoniacal par de l'azote albuminoïde sous forme de peptone, la nature des produits formés reste la même, mais le rapport varie entre l'acide acétique et l'acide succinique. Cela tient à ce que le *B. tartricus* détruit en partie l'acide succinique qu'il fabrique et cette destruction est d'autant plus grande que l'aliment qu'on lui offre lui fournit plus d'énergie. C'est ainsi que du tartrate de chaux additionné d'une solution de peptone fournira d'autant moins d'acide succinique que sa teneur en peptone sera plus élevée. Cette attaque du succinate de chaux formé a lieu pendant la décomposition du tartrate et non après que celui-ci a complètement disparu ; elle se poursuit aussi après la destruction du tartrate si bien qu'on ne trouve plus que de l'acide acétique dans les vieilles cultures.

E. — Action du Colibacille et du Bacille d'Eberth sur les nitrates (1).

L'étude de cette question m'a permis de démontrer pour la première fois l'existence de deux catégories de ferments dénitrifiants, les ferments directs et les ferments indirects.

Je ne reviendrai pas sur les méthodes de recherche et d'analyse que j'ai développées dans les chapitres II et III (p. 257 et 271), je me contenterai seulement de donner les conclusions du mémoire que j'ai publié dans les *Annales de l'Institut Pasteur*.

Le premier fait mis hors de doute, c'est que le *Bacillus coli* et le Bacille d'Eberth ne peuvent attaquer les nitrates qu'autant que le milieu renferme des principes amidés. C'est par la réaction secondaire qu'exerce sur ces corps l'acide nitreux formé par la réduction des nitrates qu'il y a un dégagement d'azote. Je dis *acide nitreux* et non pas nitrites, ceux-ci ne pouvant agir par eux-mêmes en milieu neutre ou alcalin. Sans doute le mécanisme intime de cette production d'acide nitreux nous échappe pour le moment. Résulte-t-il de la réduction directe des nitrates par les Bactéries; ou bien est-il mis en liberté par l'action sur le nitrite d'un acide formé aux

(1) L. Grimbert. Action du *B. coli* et du B. d'Eberth sur les nitrates. *C. R. de la Société de biologie*. 1898, p. 385, 657, 1134 et 1135. *Comptes-Rendus de l'Académie des sciences*, 12 décembre 1898.

dépens de certaines substances encore indéterminées du bouillon? La question n'est pas tranchée ; mais dans tous les cas, on ne saurait invoquer la réaction neutre ou alcaline du milieu pour repousser *à priori* l'hypothèse d'une production d'acide nitreux, celui-ci, au contact des amides, se détruisant au fur et à mesure de sa production.

L'expérience suivante nous donnera d'utiles renseignements à cet égard :

Dans une cloche à robinet remplie de mercure, introduisons successivement une solution de nitrite de potasse à 1 pour 100 par exemple, puis une solution d'urée et enfin un grand excès de lessive de soude pure ; colorons le tout par de la phtaléine et faisons arriver dans le mélange, par très petites portions à la fois, une quantité d'acide sulfurique étendu, insuffisante pour saturer la soude. A chaque addition d'acide, un dégagement d'azote a lieu, et cependant le milieu reste fortement alcalin. En effet, chaque goutte d'acide au moment où elle arrive dans la solution alcaline se trouve au point où elle tombe en excès pendant un temps très court, mais suffisant pour agir sur le nitrite. Il en résulte une mise en liberté d'acide nitreux qui réagit à son tour sur l'urée pour donner de l'azote et de l'acide carbonique ; ce dernier est absorbé par la soude et l'azote seul se dégage.

Quelque chose d'analogue ne peut-il se passer dans le bouillon entre les Bactéries et les matériaux qui leur sont offerts ?

En résumé les faits suivants, qui s'appliquent à tous ces ferments dénitrifiants indirects, sont nettement établis par mes expériences :

1° Chaque fois que le *B. coli* ou le B. d'Eberth ont donné un dégagement gazeux dans un milieu nitraté, le volume de l'azote recueilli a toujours été supérieur, au moins du double, à celui qui correspond à l'azotate détruit. Par conséquent, *l'azote dégagé ne provient pas exclusivement des nitrates ;*

2° L'action dénitrifiante de ces Bacilles est corrélative de la présence de matériaux amidés dans la culture ;

3° Elle semble résulter de l'action secondaire qu'exerce sur ces substances l'*acide nitreux* formé par les Bactéries.

4° La présence de nitrite, quoi qu'en aient dit certains auteurs (1), n'entrave pas les fonctions du *B. coli* ni du B. d'Eberth puisqu'ils se développent très bien dans des milieux renfermant 1 p. 100 de ce

(1) Hugounenq et Doyon, *Société de biologie*, 1897, p. 198. — *Archives de physiologie*, 1898, p. 390 et 698. *Annales de chimie et de physique*, 1898, p. 151.

sel et y dégageant de l'azote en quantité égale, sinon supérieure, à celle qu'ils produisent dans le même milieu additionné de nitrate.

En dehors des exemples que je viens de donner, je tiens à signaler un travail très intéressant et très précis d'Achalme, qui apporte à la thèse que je soutiens un précieux appui. Dans le mémoire intitulé : « *Recherches sur quelques Bacilles anaérobies et leur différenciation* » (1), l'auteur est arrivé par l'étude de leurs fonctions bio-chimiques à établir une sorte de tableau dichotomique permettant de distinguer entre eux toute une catégorie de Microbes anaérobies très voisins, tels que les Bacilles d'Achalme, de Klein, de Legros, le *Bacillus perfringens*, le *B. putrificus coli*, le Bacille du botulisme, le Vibrion septique et le Bacille du tétanos.

APPENDICE

Plan proposé par le Comité Américain (2)

Procedures recommanded for the study of Bacteria

Le comité propose deux séries d'épreuves, les unes nécessaires, les autres facultatives.

ÉPREUVES NÉCESSAIRES

(Necessary information and tests)

I. Source et habitat.
II. Caractères morphologiques.
  1° Forme.
  2° Dimensions.
  3° Groupement et arrangement dans les cultures.
  4° Coloration (*a*) par les couleurs aqueuses.
  (*b*) par la méthode de Gram.
  5° Présence ou absence de capsule.
  6° Présence ou absence de flagella (motilité).
  7° Formation de spores et différenciation de la spore avec les dépôts ou les vacuoles contenus dans la cellule.
  8° Tendance au pléomorphisme.
  9° Formes dégénérées ou involutives.
III. Caractères biologiques.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, XVI, p. 641, 1902.
(2) Page 245.

A. Caractères de culture et mode de croissance dans les milieux suivants :
   1° Bouillon nutritif.
   2° Plaques de gélatine (colonies en surface et en profondeur).
   3° Tubes de gélatine.
   4° Plaques d'agar (colonies en surface et en profondeur).
   5° Tubes d'agar.
   6° Pommes de terre.
   7° Lait.
   8° Sérum sanguin.

B. Faits biochimiques.
   1° Rôle de la température (développement à 18-22° et à 36-38°. — Température mortelle).
   2° Rôle de l'oxygène libre (aérobiose ou anaérobiose).
   3° Rôle de l'acidité ou de l'alcalinité du milieu.
   4° Action sur la gélatine (liquéfaction ou non).
   5° Action sur les protéides (lait et sérum).
   6° Action sur les hydrates de carbone (fermentation et production de gaz).
   7° Action sur les nitrates.
   8° Production d'indol.
   9° Production d'acide ou d'alcali.
   10° Formation de pigments.
   11° Développement de l'odeur.

C Pathogénie.

ÉPREUVES FACULTATIVES

(Optional tests of general usefulness)

I. Morphologie.
   1° Coloration avec des teintures spéciales.
   2° Études des flagella par des procédés de coloration particuliers.
   3° Permanence des caractères morphologiques après un développement longtemps continué et des transplantations successives sur des milieux artificiels.
   4° Reproduction photographique des Bactéries isolées.
   5° Impressions sur lamelles.

II. Physiologie.

A. Caractères des cultures et mode de développement dans les milieux suivants :
   1° Gélatine tournesolée.
   2° Sérum sanguin de Lœffler.
   3° Milieux synthétiques.

B. Caractères bio-chimiques.
   1° Température de développement optima, maxima et minima.
   2° Développement dans une atmosphère de gaz inerte (si le caractère anaérobie de la culture le permet).

3° Réaction optima du milieu et réaction limite d'acidité et d'alcalinité (indiquée par la phénolphtaléine).
4° Propriétés chimiques et solubilité des pigments produits et leur observation au spectroscope.

C. Pathogénie.
1° Inoculation à des espèces animales variées et étude minutieuse des phénomènes pathologiques produits.
2° Immunité.
3° Agglutination.
4° Détermination et isolement des substances toxiques (aussi bien des espèces pathogènes que des espèces non pathogènes).

Comme il est facile de le voir, les épreuves facultatives font le plus souvent double emploi avec les épreuves nécessaires et la marche proposée gagnerait en clarté à la réunion des deux tableaux en un seul.

TABLE DES MATIÈRES

TROISIÈME PARTIE

QUATRIÈME PARTIE

APPENDICE

SUR UN BACILLE PARATUBERCULEUX
ISOLÉ DU BEURRE

PAR

le Dr JEAN BINOT

Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur.

En mars 1899, j'ai recueilli, dans Paris, vingt-deux échantillons de beurre d'origines différentes. Chaque échantillon fut inoculé à deux Cobayes, à l'un dans le péritoine, à l'autre sous la peau du ventre.

Je n'entre pas dans le détail des expériences de cette dernière série. Qu'il me suffise de dire que plusieurs animaux inoculés dans le péritoine et sacrifiés, alors qu'à la palpation je sentais des masses indurées dans le ventre, ont montré des lésions viscérales exactement semblables à celles décrites par Mme Kempner-Rabinowitsch. Dans ces lésions se voyait un microbe, que j'ai pu isoler et qui était en tout semblable au Bacille trouvé par Mme Kempner.

Un seul des animaux de cette série est mort spontanément, au bout de 29 jours. Il était amaigri et présentait des lésions particulières : les viscères avaient gardé leur volume et leur aspect normal, à l'exception de la rate, qui était un peu augmentée de volume ; on ne constatait aucune saillie à leur surface (1).

Le foie et la rate étaient farcis de fines granulations miliaires du volume d'une petite tête d'épingle, d'un blanc jaunâtre, rappelant vaguement la tuberculose cocco-bacillaire. Dans le péritoine, se voyaient de nombreuses granulations miliaires et quelques masses volumineuses, à contenu caséeux, formant en totalité une masse bien plus considérable que la petite quantité de beurre inoculée (2 centimètres cubes), puisque quatre de ces masses dépassaient le

(1) J'ai remis des notes à ce sujet à M. le Dr Potet, qui les a insérées dans sa thèse sur les Bactéries dites « acidophiles » (Paris, 1902). Malheureusement, par une erreur de mise en pages dont le Dr Potet ne s'est pas aperçu, la phrase ci-dessus soulignée a été omise tout entière, ce qui change complètement le sens de la description. Tout ce qui suit s'applique au seul animal dont il vient d'être question. J'en ai isolé un microbe qui me paraît différer du Bacille de Mme Kempner-Rabinowitsch tant par les lésions qu'il a causées que par les cultures. C'est plutôt avec le Bacille de Korn n° II qu'il me paraît avoir le plus de ressemblance.

volume d'une forte noisette. Les poumons et les reins étaient d'aspect normal et présentaient quelques granulations miliaires semblables. Dans ces granulations miliaires et dans ces masses caséeuses, dont je n'ai pas fait l'étude histologique détaillée, se voyaient de nombreux Bacilles présentant tous les caractères du Bacille tuberculeux, en particulier les mêmes réactions colorantes par la méthode d'Ehrlich.

Le sang de l'animal largement ensemencé dans divers milieux s'est montré stérile.

Cultures. — J'ai ensemencé avec ces produits un grand nombre de milieux de culture glycérinés et autres, et n'ai rencontré dans les tubes aucun microbe étranger. Les milieux glycérinés seuls m'ont donné une culture pure du microbe rencontré à l'examen des pièces; il a poussé d'abord très péniblement et sur deux tubes seulement. Au début les réensemencements de ces cultures ont été difficiles et ne pouvaient se faire que sur milieux glycérinés. Mais depuis, le microbe habitué à la vie artificielle, pousse facilement sur les milieux glycérinés. Il se cultive aussi sur les milieux ordinaire, mais bien plus difficilement.

La culture se fait bien à la température du laboratoire et un peu plus facilement à 37°. En voici les caractères : la colonie isolée sur gélose glycérinée est d'abord blanche, mais prend bientôt une teinte jaune paille, puis orangée et enfin pelure d'orange, quand elle est ancienne. Elle peut atteindre le diamètre d'une pièce de 2 francs et plus ; elle est brillante, opaque, d'aspect visqueux, glaireux, très adhérente au milieu, sans toutefois pousser de prolongements dans son épaisseur. La surface est bientôt chagrinée, les bords irrégulièrement festonnés en bourrelet. La coloration se développe surtout à la lumière et dans les cultures très aérées. Sur certaines colonies âgées, même en l'absence de toute dessiccation, se voient à la surface des granulations irrégulières, d'aspect farineux, mais non sèches cependant.

La strie sur gélose glycérinée rappelle ces caractères.

Sur gélose ordinaire, la culture est analogue, mais bien moins abondante.

Sur pomme de terre glycérinée, la culture est abondante, homogène, opaque, de couleur jaune paille, puis orangée, présentant souvent des nodosités irrégulières qui peuvent atteindre le volume d'un pois et plus.

Sur pomme de terre ordinaire, la culture est d'abord maigre, humide, de couleur jaune clair, puis devient farineuse avec le temps.

En bouillon ordinaire, je n'ai pas eu de culture au début; depuis, le microbe se développe sous forme d'un voile mince, friable, jaune clair, avec légère collerette. Le liquide reste limpide et il se fait un dépôt au fond du vase.

En bouillon glycériné, le liquide reste clair, tandis qu'à sa surface se développe un voile gras, épais, crémeux, très visqueux, très homogène; ce voile remonte en collerette sur la paroi du ballon; de sa face inférieure tombent de longues stalactites glaireuses, qui nagent dans le bouillon. Cette culture, bien plus visqueuse et bien plus humide que celle de la tuberculose aviaire, lui ressemble cependant beaucoup, avec cette différence qu'au bout de quelques semaines elle a pris une teinte pelure d'orange.

Sur gélatine ordinaire, stries d'un blanc grisâtre, claires, opaques, d'aspect crémeux, à surface irrégulière, sans trace de liquéfaction.

Morphologie. — Le microbe, prélevé dans une jeune culture sur agar glycériné de 5 à 8 jours, se montre sous forme de fins Bacilles à bouts arrondis, de longueur très variable. La plupart des éléments ont 3 à 4 μ de longueur. Certains atteignent 5 à 6 μ, tandis que d'autres, à peine plus longs que larges, mesurent moins de 1 μ de longueur sur 0,3 à 0,4 μ d'épaisseur.

Les jeunes cultures renferment un certain nombre de Bacilles placés bout à bout en chaînette. Dans les vieilles cultures, on voit de nombreuses formes renflées en massue et quelques formes ramifiées, moins fréquentes cependant que dans certaines races ou espèces voisines. Le Bacille présente les mêmes réactions de coloration que le Bacille tuberculeux vrai et résiste énergiquement à la décoloration.

Action pathogène. — De deux Cobayes inoculés dans le péritoine avec la première culture en bouillon, l'un a survécu, tandis que l'autre est mort au bout de quinze jours avec quelques tubercules miliaires contenant le microbe, dans la rate et dans le foie.

Une Souris blanche, inoculée dans le péritoine, est morte avec quelques rares tubercules dans la rate.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

K. W. Goadby, *The mycology of the mouth. A text book of oral Bacteria.* London, Longmans, Green and C°, in-8° de XV-241 p. avec 82 fig. dans le texte, 1903. Prix : 8 sh. 6 d.

L'auteur est professeur de bactériologie au National Dental Hospital, à Londres. Son livre est excellent et donne un résumé fidèle et précis de nos connaissances sur les Bactéries de la bouche. Car c'est de Bactéries qu'il s'agit ici, et non de Champignons, quoi qu'en dise le titre ; le nombre des Champignons passés en revue est infime et vraiment négligeable.

Les six premiers chapitres (p. 1-80) traitent successivement de la classification, de la morphologie et de la biologie des microbes ; des procédés de stérilisation, des moyens d'observer et de cultiver les Bactéries ; puis vient la question de la réceptivité et de l'immunité. Bien que concise, toute cette première partie est très bien présentée ; l'auteur est un bon technicien et les méthodes qu'il préconise ont le mérite incontestable d'avoir été éprouvées par lui au laboratoire.

Le 7e chapitre (p. 81-132) traite des Bactéries pathogènes de la bouche ; 15 espèces sont décrites ; le *Discomyces bovis* complète cette liste.

Le 8e chapitre (p. 133-165) est consacré aux microbes de la carie, qui sont au nombre de 13. Les uns produisent des acides, les autres décalcifient la dentine. L'étude anatomo-pathologique et chimique de la carie est faite avec soin et permet de suivre pas à pas la destruction de la dent, phénomène sur lequel on n'avait encore que des données insuffisamment précises.

Les Bactéries de la pulpe (p. 166-169), celles des abcès alvéolo-dentaires (p. 170-174), celles enfin de la pyorrhée alvéolaire (p. 175-180) sont décrites plus brièvement. Puis vient, en deux chapitres (p. 181-214) l'étude des Bactéries vivant en saprophytes dans la cavité buccale. Le groupe encore mal défini des *Leptothrix* mériterait de nouvelles recherches, car certaines formes qu'on y rattache ont des conidies et sont par conséquent de vrais Champignons.

Tout en faisant ressortir le mérite de cet ouvrage, nous ne devons pas omettre de signaler son excellente exécution typographique, non plus que la perfection des figures dont il est orné.

A. Fischer, *Vorlesungen über Bakterien.* Iéna, G. Fischer, 2e édition, in-8° de X-374 p. avec 69 fig. dans le texte, 1903. Prix, broché : 8 mk. ; relié, 9 mk.

Dans l'espace de deux années, la première édition de cet ouvrage a été épuisée : c'est en dire tout le mérite. Les traités de bactériologie ne

manquent pas, mais celui-ci se fait remarquer entre tous parce qu'il étudie les microbes au point de vue de leur histoire naturelle et de leur biologie. Ce livre n'est point un ouvrage de bactériologie clinique ou médicale; c'est essentiellement un ouvrage de botanique, avec des vues générales sur le rôle des microbes dans le monde. Le *Traité de Microbiologie* du professeur DUCLAUX est quelque chose du même genre, mais d'une facon plus étendue, moins concise. On ne trouve pas davantage ici les chapitres de technique qu'il est de mode de placer en tête de tout livre de bactériologie. L'auteur est professeur de botanique à l'Université de Bâle : il traite son sujet en homme de science pure; raison de plus pour que les médecins et les bactériologistes tirent le plus grand profit de sa lecture.

Après plusieurs chapitres sur la structure, la morphologie, la multiplication et la variabilité des Bactéries, l'auteur donne la classification de ces êtres. Puis il montre leur répartition dans l'air, le sol et l'eau; l'influence exercée sur eux par les agents physico-chimiques, d'où une étude sommaire de l'asepsie et de la désinfection. Les espèces aérobies, anaérobies, celles qui fabriquent du soufre, du fer, de la lumière ou des pigments sont étudiées tour à tour.

Vient ensuite un très bon exposé des phénomènes grandioses de la destruction des matières azotées (putréfaction, nitrification, dénitrification, etc.) et de l'acide carbonique. Enfin les Bactéries sont envisagées, à un point de vue général, comme agents morbides (p. 274-357), ce qui conduit l'auteur à exposer les importantes questions de la lutte de l'organisme contre les parasites, de l'immunité et des vaccinations.

L'ouvrage se lit avec un réel intérêt ; il est d'un très bon style, qualité appréciable dans un livre allemand. Il gagnerait à être plus abondamment illustré.

OUVRAGES REÇUS

Tous les ouvrages reçus sont annoncés.

Généralités

GAUCHER, Leçon d'ouverture. Clinique des maladies cutanées et syphilitiques. (Hôpital Saint-Louis). *La Presse médicale*, n° 92, 15 nov. 1902.

H. HALLOPEAU, Coup d'œil d'ensemble sur les progrès de la dermatologie au XIX° siècle. *Journal des maladies cutanées et syphilitiques*, in-8° de 19 p., janvier 1903.

LE DANTEC, La médecine coloniale. Leçon d'ouverture de la chaire de pathologie exotique à l'Université de Bordeaux. *Le Caducée*, III, petit in-8° de 30 p., 1903.

Parasites en général

M. BRAUN, *Die thierischen Parasiten des Menschen*. Würzburg, C. Kabitzsch, 3. Auflage, in-8° de XII-360 p., avec 272 fig. dans le texte, 1903. — [Cet excellent ouvrage en est à sa 3° édition. Nous ne saurions le recommander trop vivement. Les figures sont nombreuses et d'une parfaite exécution. Il est superflu de dire qu'il est au courant de toutes dernières acquisitions de la science].

C. GERBER, La castration parasitaire amphigene du *Thymelea sanamunda* All. *C. R. Soc. biol.*, 10 juin 1899.

C. GERBER, Sur un phénomène de castration parasitaire observé sur les fleurs de *Passerina hirsuta* D. C. *C. R. Soc. biol.*, 11 mars 1899.

C. GERBER, Sur une Hémiptérocécidie et une Coléoptérocécidie des environs de Marseille. *C. R. Soc. biol.*, 3 mai 1902.

C. GERBER, Zoocécidies provençales. *C. R. de l'Association française pour l'avancement des sciences*, Congrès d'Ajaccio, 1901. In-8° de 27 p., 9 sept. 1901.

O. VON LINSTOW, Die moderne helminthologische Nomenclatur. *Zoologischer Anzeiger*, XXVI, p. 223-225, 1903.

A.-E. SHIPLEY, On a collection of Parasites from the Soudan. *Archives de Parasitologie*, VI, p. 604-612, pl. VII et XII, 1902.

H. VON IHERING, Die Helminthen als Hilfsmittel der zoogeographischen Forschung. *Zoologischer Anzeiger*, XXVI, p. 42-51, 1902.

P. VERDUN et G. BOUCHEZ, *Recherches sur la mélanotrichie linguale* (*langue noire*). Lille, in-8° de 65 p., 4 pl., 1903.

F. ZSCHOKKE, Marine Schmarotzer in Süsswasserfischen. *Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel*, XVI, p. 118-157, taf. I.

Protozoaires

R.-W. BOYCE, R. ROSS and CH. S. SHERRINGTON, The history of the discovery of Trypanosomes in Man. *The Lancet*, in-8° de 18 p., 21 february 19 3.

J. GUIART, Sur un nouvel Infusoire parasite de l'Homme. *C. R. Soc. biol.*, 21 février 1903.

Paludisme

D'EMMEREZ DE CHARMOY, *Report from the Malaria Enquiry Committee*. Port-Louis, Museum Desjardins, in-4° de 15 p., 13 août 1902.

E. LEGRAIN, La fièvre quarte. Étiologie, évolution, traitement. Formes dissociées de l'accès quarte. *Etudes de médecine coloniale*, première partie, gr. in-8° de 72 p., septembre 1902.

R. ROSS, Report on Malaria at Ismailia and Suez. *Liverpool School of tropical medicine*, memoir IX, in-8° de 23 p., 1903.

A.-E. SHIPLEY, A pot of Basil. *Nature*, in-8° de 4 p., january 1st, 1903.

Cestodes

V. Ariola, Sono i Cestodi Polizoici? *Atti della Società ligustica di scienze naturali e geografiche*, XIII, in-8° de 11 p., 1903.

R. Aupois, *Des kystes hydatiques du grand épiploon*. Thèse de Paris, in-8° de 84 p., 1902.

O. von Linstow, *Echinococcus alveolaris* und *Plerocercus Lachesis*. *Zoologischer Anzeiger*, XXVI, p. 162-167, 1902.

O. von Linstow, Drei neue Tänien aus Ceylan. *Centralblatt für Bakteriologie, Originale*, XXXIII, p. 532-535, 1903.

Trématodes

F. Fischöder, Die Paramphistomiden der Säugethiere. *Zoologische Jahrbücher*, XVII, p. 485-660, Taf. 20-31, 1903.

A. Looss, Die Distomen-Unterfamilie der *Haploporinae*. *Archives de Parasitologie*, VI, p. 129-143, 1902.

A. Looss, Notizen zur Helminthologie Egyptens. V. Eine Revision der Fasciolidengattung *Heterophyes* Cobb. *Centralblatt für Bakteriologie*, XXXII, p. 886-891, 1902.

A. Looss, Zur Kenntnis der Trematodenfauna des Triester Hafens. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXXII, p. 115-122, 1902.

Nématodes

A. Looss, Weiteres über die Einwanderung der Ankylostomen von der Haut aus. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXXIII, p. 330-343, 1903.

Remlinger et Menahem Hodara-Bey, Deux cas de chylurie filarienne. *Archives de Parasitologie*, VI, p. 574-584, 1902.

A.-E. Shipley, On the Nematodes parasitic in the Earthworm. *Archives de Parasitologie*, VI, p. 619-623, 1902.

Insectes

C. Gerber, Habitat de l'*Apion cyanescens* Gyll. aux environs de Marseille (Col.). *Bull. de la Soc. entomol. de France*, p. 208-209, 1902.

M. Neveu-Lemaire, Note additionnelle sur quelques Moustiques de la Guyane. *Archives de Parasitologie*, VI, p. 613-618, 1902.

Bactériologie

A. Cedercreutz, *Recherches sur un Coccus polymorphe, hôte habituel et parasite de la peau humaine*. Thèse d'Helsingfors, in-8° de 135 p., 1901.

M. Giraud, *Contribution à l'étude de la psittacose*. Thèse de Paris, in-8° de 40 p., 1903.

Houssay, Fièvre aphteuse. *Archives de médecine des enfants*, p. 153-164, 1903.

M. Lœper, La formule leucocytaire des infections et intoxications expérimentales et humaines. *Archives de Parasitologie*, VI, p. 521-573, 1902.

O. Streng, *Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung einiger Bakterien durch die Nieren*. Helsingfors, in-8° de 220 p., 1 Taf., 1902.

Mycologie

L. Matruchot, Une Mucorinée purement conidienne, *Cunninghamella africana*. Etude éthologique et morphologique. *Annales mycologici*, I, p. 45-60, pl. I, 1903.

Le Gérant, F. R. de Rudeval.

Lille. — Typ. & Lith. Le Bigot frères

ÉTUDE

SUR LES MYCOSES EXPÉRIMENTALES

(ASPERGILLOSE ET SACCHAROMYCOSE)

PAR

le Dr Th.-Ch. MACÉ,

Licencié ès-sciences naturelles.

INTRODUCTION

Il n'est pas dans nos intentions de faire un tableau complet de l'histoire des maladies dues aux Champignons appartenant à l'ordre des Ascomycètes. Cette histoire, où la plus grande place est occupée par l'Aspergillose, a été faite trop récemment et par des auteurs plus autorisés que nous. Nous voulons simplement exposer quelques expériences nouvelles reposant sur des connaissances spéciales de l'anatomie des Oiseaux. Cependant, il nous paraît indispensable de rappeler, le plus brièvement possible, les grands traits relatifs à l'observation des cas spontanés et à l'histoire des expériences faites à ce sujet.

Donc, dans une première partie, nous exposerons :

1° L'historique général (cas spontanés et expérimentation) ;

2° La répartition zoologique des espèces atteintes et l'étiologie ;

3° La symptomatologie et les organes lésés.

Dans une seconde partie :

1° Les agents pathogènes en général et ceux que nous avons employés personnellement ;

2° Le choix des sujets d'expérience, les voies d'infection et les résultats obtenus.

Dans une troisième partie, nos expériences personnelles et nos conclusions.

HISTORIQUE

Les Champignons en général, et les Mucédinées en particulier, ont été longtemps considérés comme uniquement saprophytes,

aussi leur transformation en parasites a-t-elle soulevé un intérêt universel. Cette notion n'est devenue courante que vers 1841, où parut la première observation complète, avec détermination du parasite et dessins, celle de E. Deslonchamps. La polémique soulevée fut l'origine du mouvement qui s'est continué jusqu'à nos jours. A cette occasion on exhuma des relations oubliées ou même ayant passé complètement inaperçues. C'est à A.-C. Mayer (1815) que paraissait due jusqu'à présent la publication du premier cas de Moisissure développée chez un animal vivant : il s'agissait d'un Geai présentant un thalle parasite dans les sacs aériens et les poumons. Mais, d'après nos recherches, on doit rapporter à Réaumur (1749) la première relation de ce genre : il s'agissait de Moisissures développées dans des œufs à l'incubation.

Bennett (1842) publie le premier cas d'un Champignon parasite dans le poumon de l'Homme. Rousseau et Serrurier (1842) publient le premier cas relatif à un Mammifère, le *Cervus axis* et à un Reptile, la *Testudo indica*.

Jusqu'à Robin, les relations sont très succinctes ; on parle simplement d'une Mucédinée, sans en déterminer l'espèce. Avec Robin et Virchow (1856), la question entre dans sa phase vraiment scientifique : on isole et on cultive le parasite dans des milieux appropriés ; de plus, on décrit minutieusement les lésions qui l'accompagnent.

Fresenius (1858) publie un cas de Moisissure développée chez l'Outarde et le rapporte à l'*Aspergillus fumigatus*. En 1889, la présence des Champignons chez l'Homme vivant est démontrée par Dieulafoy, Chantemesse et Widal chez des gaveurs de Pigeons, atteints de bronchite et rendant des fragments de mycélium dans leurs crachats. Rénon (1895) étend les connaissances sur l'étiologie à une seconde catégorie de travailleurs : les peigneurs de cheveux.

Jusqu'en 1870, le rôle du Champignon trouvé dans un organisme est conçu très simplement : c'est un parasite accidentel, presque un saprophyte, qui se développe secondairement sur des tissus ayant subi une altération préalable quelconque (tuberculose, cancer, etc.). Grohe et Block eurent l'idée d'étudier l'action des spores de divers Champignons introduites dans les veines d'animaux vivants ; ils réalisèrent ainsi des lésions de Mycose expérimentale. Dès lors, la conception du rôle pathogène des Champi-

gnons dans l'organisme est profondément modifiée. Nous ne pouvons mieux faire que de citer la conclusion de Rénon pour l'*A. fumigatus* : « Ce n'est donc pas un simple saprophyte, mais un vrai parasite ». Depuis Grohe, à l'occasion des cas observés spontanément, tous les auteurs se sont livrés à des expériences variées; l'histoire des Mycoses spontanées et celle des Mycoses expérimentales sont étroitement confondues.

Telles sont les trois grandes phases de l'histoire des Mycoses : une première phase d'observation pure et simple, une seconde d'observation et de détermination du parasite et une troisième où l'expérimentation tient une très large place.

Les notions historiques sur les Mycoses en général, ont été condensées par Dubreuilh, en 1891. Celles relatives à l'Aspergillose en particulier ont été réunies par Lucet (1897). La même année, Rénon a publié une monographie absolument complète de tout ce qui se rapporte à l'Aspergillose spontanée et expérimentale.

L'ASPERGILLOSE CHEZ L'HOMME ET LES ANIMAUX, SON ÉTIOLOGIE.

L'étude comparative des cas d'Aspergillose ordonnés, suivant la classification zoologique des sujets atteints, nous donne de précieux renseignements sur l'étiologie probable de cette affection.

Disons d'abord que c'est une maladie parasitaire d'un genre particulier ; elle ne passe pas d'animal à animal, on n'a jamais vu d'épidémies, les épizooties sont exceptionnelles et ne dépassent pas les limites d'une écurie ou d'un pigeonnier. Ces épizooties s'expliquent par la position des animaux placés dans des conditions communes de terrain et de foyer d'infection.

En général, nous manquons de renseignements sur le milieu où vivaient les sujets, leurs conditions hygiéniques, leur alimentation. De même les antécédents pathologiques sont à peu près inconnus ; seuls les Otologistes nous donnent des renseignements précis. Siebenmann a trouvé que, seulement dans 14 % des cas, le conduit auditif était tout à fait sain. La seule indication générale est que la maladie se présente chez des cachectiques, hommes ou animaux.

L'Homme doit pourtant être mis à part. Volontairement il ne se soustrait pas aux conditions hygiéniques défectueuses ; c'est ce qui

fait que les cas sont les plus fréquents chez lui au point de vue absolu, mais les enquêtes sont relativement plus rares et plus superficielles chez les animaux.

Les efforts des maîtres français ont mis en lumière, ces dernières années, l'influence néfaste de certaines professions :

1° Les gaveurs de Pigeons (Dieulafoy, Chantemesse et Widal, 1889) ;

2° Les peigneurs de cheveux (Rénon, 1896).

Mais, le plus souvent, il est impossible d'incriminer la profession d'une façon quelconque. Les Mammifères domestiques sont souvent victimes de la maladie. En effet, ils peuvent difficilement se soustraire aux conditions ambiantes : logement et nourriture. Chez le Chien pourtant, la maladie est exceptionnelle : on n'en connaît que deux cas, de Gotti (1871) et Rivolta (1885) ; de même, le Chat jusqu'à présent paraît réfractaire (Rénon). Une demi indépendance, une alimentation carnée et une grande circonspection dans leurs enquêtes les mettent à l'abri des poussières dangereuses. Il suffit de leur opposer le Bœuf [Zürn (1876, *Pleospora herbarum* et *Aspergillus fumigatus*), Roeckl (1885), Piana (1886), Franck (1890), Lucet (1894), Bournay (1895)] et le Cheval [Rivolta (1856), Pech (1876), Zürn (1876), Martin (1884), Goodall (1893), Thary et Lucet (1894), Drouin et Rénon (1896)], qui s'ébrouent violemment sur leurs aliments qu'ils ne peuvent pas choisir, et qui sont atteints le plus fréquemment après l'Homme. On a signalé chez le Mouton un seul cas (Mazzanti, 1891) ; cet animal vit d'une façon plus indépendante et moins confinée que les autres Herbivores domestiques.

Enfin, l'observation de Rousseau et Serrurier sur le *Cervus axis* (1841) est demeurée unique.

Chez les Oiseaux, le nombre des cas observés est beaucoup plus considérable que chez les Mammifères, l'Homme mis à part. En voici la très instructive nomenclature :

Coureurs : Autruche (Bizard et Pommay, 1885).

Rapaces : Faucon (Dubois *in* Müller et Retzius, 1842), Effraie (Müller et Retzius, 1842).

Passereaux : Bouvreuil (Rayer et Montagne, 1842), Cardinal (Bollinger, 1878), Geai (Mayer, 1815), Corbeau (Theile, 1827).

Grimpeurs : Perroquet (Bouchard, 1866, cité par Carville en 1873); Perruche (Rousseau et Serrurier, 1841).

Pigeons (Rousseau et Serrurier, 1841 ; Bonizzi, 1876; Bollinger, 1878 ; Generali, 1878 ; Kitt, 1881 ; Dieulafoy, Chantemesse et Widal, 1889; Rénon, 1893).

Gallinacés : Faisan (Robin, 1853 ; Rivolta, 1887; Lucet, 1894) ; Poule (Rousseau et Serrurier, 1841 ; Rivolta et Delprado, 1881 ; Perroncito, 1884).

Échassiers : Outarde (Fresenius, 1858) ; Cigogne (Heusinger, 1826); Pluvier (Spring, 1848).

Palmipèdes : Cormoran (Reinhardt, 1842) ; Eider (Deslonchamps, 1841) ; Canard (Hayem, 1873) ; Oie (Reinhardt, 1842) ; Lucet, 1894) ; Cygne (Jäger, 1816 ; Zschokke, 1887) ; Flamant (Owen, 1833 ; Heusinger, 1875) ; Pingouin (Reinhardt, 1842).

On peut se demander quelles sont les causes qui déterminent une aussi grande fréquence ? On ne peut les trouver que dans la conformation des organes respiratoires ; en effet, ces observations ont trait dans l'immense majorité des cas au parasitisme d'un véritable thalle développé dans les poumons et les sacs pneumatiques.

Les Oiseaux présentent dans leur conformation anatomique une curieuse particularité. On trouve annexés à leurs poumons des sacs séreux clos de toutes parts, sauf une très large communication avec une bronche. Ces sacs s'insinuent entre tous les organes thoraciques et abdominaux, pénétrant même la cavité de certains os. Ils sont très élastiques, parcourus par l'air à chaque mouvement respiratoire et présentant, comme nous le verrons plus tard en détail, d'excellentes conditions pour la végétation du Champignon. Malgré cette disposition commune à tous les Oiseaux, on n'a pas signalé la maladie chez un Oiseau libre : c'est toujours chez un sujet séquestré ou chez un animal domestique, avec le maximum de fréquence chez les Oiseaux allant à l'eau ou se roulant dans la poussière. Il faut cependant mentionner spécialement le Pigeon. En effet, Dieulafoy, Chantemesse et Widal avaient déjà signalé un grain de Blé, enclavé dans une bronche, comme point de départ de l'infection aspergillaire. Personnellement, nous avons à maintes reprises trouvé des grains de Blé dans les sacs pneumatiques et mieux encore d'énormes masses de pâtée de maïs ayant,

à la suite d'une fausse route dans le gavage, rempli complètement un sac. Il y avait naturellement un fort épaississement de la paroi et enkystement de la masse. Ceci nous montre la facilité avec laquelle peut se faire l'infection de ces sacs.

Un petit nombre d'auteurs, Gayon (1875), Dareste (1892), Artault (1893), ont cité des exemples de Moisissures dans les œufs en incubation. Le premier en date, et de beaucoup, est Réaumur (1749). En incubant des œufs, il se servait de fumier comme source de chaleur; on conçoit donc facilement qu'il réalisait d'un seul coup toutes les conditions nécessaires pour l'infection de ses œufs. Sa relation est probablement la première où l'on signale le développement de Moisissures sur les corps vivants.

Dans les conditions ordinaires, Lucet est le seul qui ait observé systématiquement des cas d'infection aspergillaire. La confection des nids avec des matériaux moisis est un mode de contamination; de plus, les Poules pondent souvent dans des endroits peu accessibles, sombres et humides, la coquille de l'œuf varie d'épaisseur, depuis l'absence totale jusqu'à un demi-millimètre ; elle présente souvent des pores très larges ; cela suffit pour fixer l'étiologie.

En résumé, nous trouvons, comme condition commune à l'Homme et aux Animaux, la vie sédentaire avec tous les inconvénients qu'elle comporte, principalement le contact avec des poussières d'origine végétale.

Nous avons trouvé dans Rousseau et Serrurier l'indication d'une Moisissure développée dans le poumon d'une Tortue terrestre (*Testudo indica*). Ce fait ne paraît pas avoir été relevé par les différents auteurs qui se sont occupés des infections dues aux Champignons. Nous nous sommes livré à des recherches systématiques chez la *Testudo græca* et nous avons été assez heureux pour trouver, chez 2 sujets sur 41, une Levûre blanche qui occupait une loge du poumon. On sait que, chez les Tortues, les poumons, symétriquement placés sous la carapace et enveloppés dans un sac fibreux, sont divisés en un nombre variable de loges, voisin de 7, complètement séparées les unes des autres et aboutissant successivement d'arrière en avant à un vestibule commun. Les loges moyennes sont les plus spacieuses; les Champignons peuvent y atteindre de grandes dimensions. Dans les cas présents, la Levûre s'étalait sur toutes les anfractuosités et atteignaient jusqu'à 20 et 30^{mm} de lar-

geur, mais, fait très remarquable, sans amener aucune modification dans le tissu pulmonaire sous-jacent (1). Le léger enduit enlevé, rien ne distinguait cette zone des parties saines. Nous verrons ultérieurement que l'expérimentation nous a donné des résultats négatifs. Quant à l'étiologie, nous n'avons pas de données : l'une des Tortues avait passé l'hiver à Paris, l'autre arrivait d'Afrique.

SYMPTOMATOLOGIE ET DISTRIBUTION ANATOMIQUE DE L'ASPERGILLOSE

Chez l'Homme, l'Aspergillose présente deux formes bien tranchées :

1° Pneumonie aspergillaire ;

2° Développement secondaire du Champignon dans une cavité naturelle ou pathologique.

L'Aspergillose pulmonaire n'est pas très fréquente, ou plus exactement on songe exceptionnellement à incriminer l'*Aspergillus*. La raison en est bien simple. Les observateurs qui ont étudié cliniquement la pneumonie aspergillaire sont unanimes à déclarer que les signes perceptibles ne peuvent servir à spécifier l'origine aspergillaire de l'affection. Tous les signes, sauf un cependant : l'examen des crachats. Il faut ajouter que, dans l'immense majorité des cas, il y a superposition d'un état pulmonaire antérieur et de l'Aspergillose. Comme l'évolution de cette dernière dure plusieurs années, il est difficile, pour ne pas dire impossible, de faire la part de l'une et de l'autre, ce qui conduit à établir deux divisions :

1° La pneumonie est primitivement et uniquement d'origine aspergillaire, c'est l'Aspergillose primitive ;

2° La pneumonie aspergillaire s'est greffée sur une tuberculose vraie, celle-ci ayant préparé le terrain à la pneumonie aspergillaire, c'est l'Aspergillose secondaire.

La théorie de l'Aspergillose primitive n'a pas cours en Allemagne ; elle a été créée et est défendue par les maîtres français.

Il n'entre pas dans nos intentions de discuter la symptomatologie de l'Aspergillose primitive et de l'Aspergillose secondaire ; nous n'avons pas d'observation personnelle, cela suffit amplement à

(1) Les deux Tortues en question ont été données par nous au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris (collection R. Blanchard, n° 819).

nous imposer la réserve la plus stricte. Nous nous contenterons de citer l'avis de Rénon (Devillers et Rénon, 1899) à propos d'un cas d'Aspergillose avec rejet dans les crachats de fragments de thalle : « jusque-là il n'y avait que le cas de Herterich sûrement primitif.»

En tous cas, les signes de l'Aspergillose pulmonaire, primitive ou secondaire, sont les mêmes : bronchite, pneumonie aboutissant à l'ulcération ou à la sclérose. Les signes cliniques ne permettent pas de différencier l'Aspergillose de la Tuberculose ou de la Pneumoconiose.

Le développement de l'Aspergillose dans le conduit auditif externe est relativement si fréquent que les auteurs qui se sont occupés de la question ont renoncé à établir la nomenclature des cas observés. C'est généralement dans un bouchon de cérumen que se fait le développement : oxygène et chaleur, les conditions élémentaires sont remplies. De même dans les fosses nasales, d'où l'indication d'examiner soigneusement ces cavités, en présence de fragments de mycélium dans les crachats.

Par ordre de fréquence viennent ensuite les excavations pulmonaires tuberculeuses (Lichtheim, Friedreich, Dusch et Pagentescher, Fürbringer) et les cavernes du cancer (Hasse). La caverne est toujours décrite comme assez considérable et communiquant le plus souvent avec les bronches.

Dans les plaies, le cas d'Olsen et Gade, celui de Saxer plus récent; à la faveur d'un pansement insuffisamment occlusif, des conidies apportées par l'air ou par l'ouate de tourbe non effectivement stérilisée, germent et se reproduisent.

Les plaies de l'œil sont fréquemment le siège du développement de l'*Aspergillus*.

Enfin le cas tout à fait exceptionnel d'Ernst où le mycélium et les conidies étaient expulsés par les urines. Comme il s'agissait d'une diabétique sondée trois fois par jour, il est probable que la sonde apportait le Champignon et ses conidies. Comme nous le verrons plus loin, jamais l'*Aspergillus* ne donne de conidies à l'abri de l'air.

Chez les Mammifères autres que l'Homme, on observe :

1° Une forme pneumonique ;

2° Une forme pneumonique septicémique ;

3° Addition à un état morbide antérieur : chez le Chien, catarrhe

auriculaire observé par Gotti ; chez le Cheval, tumeur (Rivolta), otite (Goodall), tumeur (Drouin et Rénon).

Comme chez l'Homme, le diagnostic est rarement fait pendant la vie, c'est une trouvaille d'autopsie. Pendant la vie, les symptômes sont communs à la généralité des affections du poumon : essoufflement, signes d'asphyxie prochaine, température. En somme, difficulté insurmontable de dissocier des états pathologiques complexes se traduisant par des signes peu nombreux.

Chez les Oiseaux, on a, soit une pneumonie qui emporte très rapidement le sujet, soit, s'il s'agit du développement d'un thalle dans les cavités respiratoires, aspect « en boule », défaut d'alimentation, somme toute une cachexie plutôt lente. L'Aspergillose est encore une trouvaille d'autopsie; on croit avoir affaire à une tuberculose ou à une affection vermineuse.

Les œufs en incubation n'arrivent pas à l'éclosion, quand ils sont envahis par le Champignon ; le mirage fait voir une tache opaque de dimensions variables. A l'ouverture, on voit la Moisissure occupant surtout la chambre à air.

Comment fera-t-on le diagnostic certain d'Aspergillose (avec la réserve de la superposition de plusieurs états pathologiques) ? « La présence du mycélium dans les crachats est le seul signe qui ait une valeur réelle » (Rénon, p. 260).

Après la mort, un fragment de thalle organisé nous donnera une certitude réelle. Dans le cas de pneumonie due à l'inspiration des conidies, la question est plus complexe, les foyers étant rapidement envahis par des microbes secondaires.

Comme second moyen, la culture, mais après la constatation du mycélium. Il faut, en effet, se garder de mettre les deux indications sur le même rang : la facilité extrême de dissémination, la résistance extraordinaire des conidies peuvent conduire à une grande perplexité (cas de Drouin et Rénon).

L'introduction d'une faible quantité de conidies dans un poumon est un fait très grave par lui-même : réaction inflammatoire intense, germination de quelques conidies et développement d'un thalle qui traumatise les tissus, prolongeant ainsi l'action des conidies. La reproduction ne se fait pas ou très mal, du moins les conidies abandonnent difficilement la tête sporifère qui les porte. Le sujet est généralement emporté avant leur maturité.

Dans l'Aspergillose primitive, la guérison se fait par sclérose, mais alors rien ne décèle la cause et l'origine de la lésion. Tuberculose ? Pneumokoniose ? Aspergillose ? Telles sont les questions que l'on se pose. Il faut ajouter que cette évolution est très longue, de six à sept ans (Rénon). L'Aspergillose secondaire est une affection des plus graves, non par elle-même, mais par la valeur pronostique qu'elle comporte, en raison des conditions de son développement sur un terrain complètement débilité ; elle indique la mort à brève échéance (Rénon). On peut rapprocher cette indication de celle du Muguet survenant dans une cachexie.

DESCRIPTION ET BIOLOGIE DES ASCOMYCÈTES PATHOGÈNES

Observations anciennes.

Sans entrer dans des considérations de botanique pure, il est pourtant nécessaire de dire que les Champignons dont nous envisageons l'histoire appartiennent à l'ordre des Ascomycètes. *Aspergillus*, *Sterigmatocystis*, *Penicillium*, pour la famille des Périsporiacées ; *Pleospora* pour celle des Pyrénomycètes. A cette dernière, on ne peut d'ailleurs rapporter qu'un seul cas (Zürn, 1876), fait d'autant plus digne de remarque que cette famille, dont le type est l'Ergot, fournit aux végétaux un nombre colossal de parasites. Il présente d'ailleurs deux formes conidiennes : *Alternaria* et *Sarcinella*.

L'*Aspergillus* étant le plus fréquent, comment se présente-t-il à nous ?

A l'œil nu, c'est une plaque de Moisissure (d'où son nom ancien de Mucédinée) d'épaisseur variable, de couleur allant du blanc pur au vert très foncé, quelquefois noir pour la face supérieure, rouge pour la face inférieure. A la loupe, on voit que la plaque est formée d'un feutrage de filaments très fins. De la face supérieure de ce feutrage s'élèvent des filaments plus gros, de couleur brune, se terminant par une masse d'un noir mat. Sous le microscope, le feutrage dilacéré se montre constitué par des filaments rameux cloisonnés, incolores, c'est le thalle. Les branches dressées non cloisonnées se terminent par un renflement sphérique, sur lequel sont fixées en direction radiale des cellules allongées ou *stérigmates*,

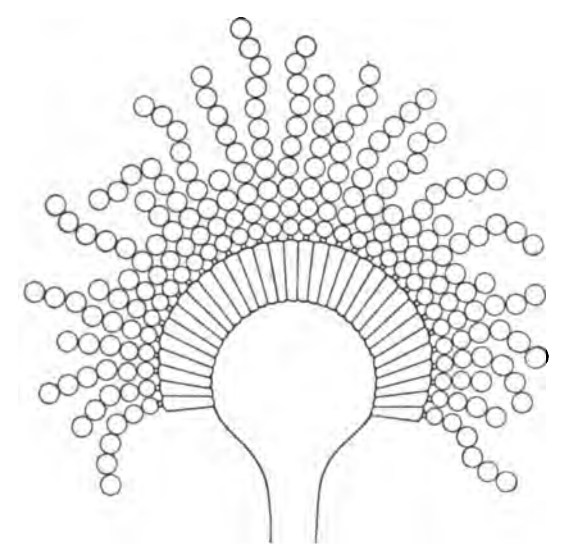


Fig. 1. — Fructification d'*Aspergillus fumigatus*. × 1200.

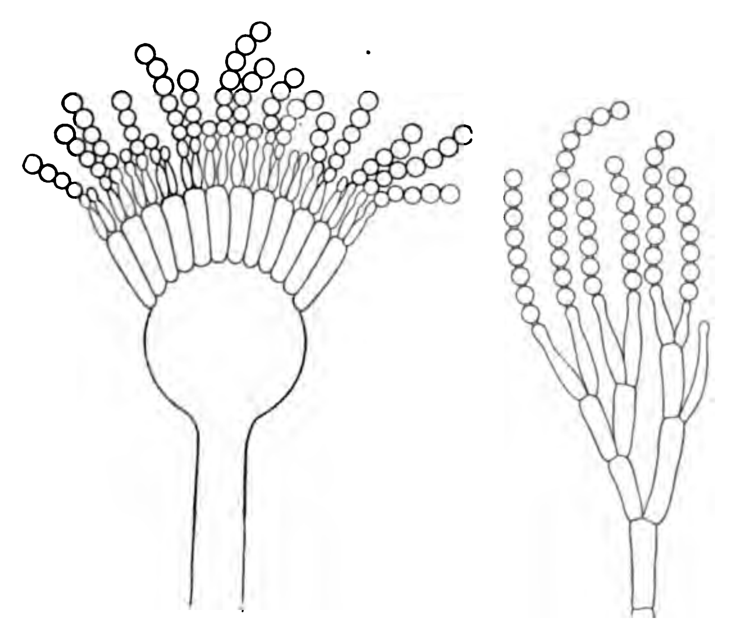


Fig. 2. — Fructification de *Sterigmatocystis*. × 600.

Fig. 3. — Fructification de *Penicillium*. × 600.

portant à leur extrémité libre des chapelets de corps cellulaires très petits ou *conidies*.

Un *Aspergillus* vrai ne porte qu'un chapelet de conidies sur chaque stérigmate ; un *Sterigmatocystis* porte de deux à cinq chapelets. Un *Penicillium* a ses filaments fertiles dressés, cloisonnés ; il présente des chapelets de conidies rassemblés les uns contre les autres, de manière à former un pinceau.

Étant donné un *Aspergillus*, est-il possible de déterminer l'espèce à laquelle il appartient ? C'est très difficile. En effet, les variations des caractères anatomiques sont d'un tel ordre que l'on se heurte à des difficultés qui ne peuvent être vaincues que par un spécialiste. Se fondera-t-on sur la couleur ? La couleur d'une culture varie avec le temps dans un même milieu, avec la température à laquelle se fait le développement ; elle dépend surtout du nombre d'appareils conidiens dont la teinte foncée cache plus ou moins le fond blanc du thalle. La température de culture ne caractérise pas davantage un *Aspergillus* : tous cultivent entre 15° et 55°, il n'y a de différence que dans la rapidité du développement du thalle ou des appareils conidiens. Enfin, le pouvoir pathogène ne sera pas d'un plus grand secours ; on a vu plus haut que l'*Aspergillus*, le *Sterigmatocystis*, le *Penicillium*, le *Pleospora* étaient pathogènes spontanément.

Cet exposé peut nous servir à apprécier dans une certaine mesure la tendance actuelle à rapporter l'action pathogène à un agent unique : l'*A. fumigatus*, dont la brève formule serait : *Aspergillus* vrai, de couleur comparable à celle du charbon de bois mal cuit, optimum de culture 38°-40°, action pathogène très intense.

La première condition n'est pas indispensable. Les *Sterigmatocystis* sont pathogènes (Lindt, Eidam), les *Aspergillus* de toutes couleurs sont pathogènes. Dans la majorité des cas décrits, la couleur est verte, exceptionnellement brunâtre. La température n'influe que par son action sur le développement des conidies et favorisant par cela même l'extension du Champignon. Kaufmann, par exemple, a fait ses expériences avec un *Aspergillus* cultivé à 24°.

Dès lors, on n'est plus surpris du nombre considérable d'*Aspergillus* « vrais » décrits plus de quarante espèces ; chaque auteur presque a étudié une espèce particulière : *A. candidus*, *A. subfuscus*, *A. flavescens*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nigricans*, *A. nigrescens*,

A. niger, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *A. malignus*, *A. dubius*, etc., etc... Tous ces noms correspondent à des variations dans la couleur du Champignon et c'est ainsi que doit se comprendre l'opinion exprimée par de Bary : tous les *Aspergillus* ne sont que des variétés d'une même espèce.

On a trouvé l'*Aspergillus* à peu près partout où on l'a cherché. Il résulte des longues recherches de Rénon que, dans les villes, on le trouve dans les vieilles poussières, couches superficielles du sol, feuilles mortes, etc. Lucet l'a rencontré, en particulier, à la surface des plantes sur pied : Avoine, Orge, Blé, dans la moitié des cas, ce qui est très important au point de vue de l'étiologie de l'Aspergillose spontanée des animaux. Comme nous le verrons, la résistance des conidies aux divers agents est indéfinie ; il suffit de la chaleur d'une étable, par exemple, pour donner un nouvel essor au développement du Champignon.

L'*Aspergillus* ne donne pas de culture dans les milieux solides ; dans les milieux liquides, il ne prend sa pleine activité qu'à la surface. Pour développer son thalle, il exige : 1° de l'eau, 2° de la glycose, 3° une réaction acide du milieu, 4° une température qui peut varier de 15° à 55°. Pour donner dès conidies, il lui faut de l'oxygène libre et une température de 20° à 55°.

Les milieux présentant ces conditions sont excessivement nombreux. Parmi les milieux naturels, nous citerons brièvement : moût de bière, moût de raisin blanc, jus de groseilles, jus de légumes, pomme de terre, carotte, betterave, pain humide. Pour les milieux artificiels : glycérine gélosée, maltose de Sabouraud, liquide de Raulin (Rénon), les combinaisons de ce dernier avec la pomme de terre, la carotte et surtout la gélose. Il faut remarquer que le chauffage du liquide de Raulin de 90° à 120° transforme le sucre candi en glucose. De même, le chauffage de la gélose avec le liquide de Raulin ou un acide faible donne un milieu excessivement riche en glycose, ce qui explique le développement intense du Champignon sur ce dernier milieu.

Chaque milieu imprime une allure particulière à l'*Aspergillus*. Vert sur pomme de terre, il peut être rougeâtre sur carotte (Lucet) ; il devient brun roux, presque noir sur liquide de Raulin. Jusqu'à présent, on n'a pas réussi à déceler la présence d'une toxine ni dans le liquide résiduel de culture (Kotliar), ni dans le mycélium

lui-même (Rénon). A la vérité, il faut dire que Lucet aurait obtenu une variation de température de 1°3 avec le liquide résiduel.

La résistance des conidies au temps paraît être très longue : Lucet l'évalue à un an, Rénon à 3, 4 et 6 ans, Brefeld à 6 ans, Eidam à 10 ans. Le pouvoir végétatif est amoindri notablement, mais la génération suivante récupère toutes les qualités ancestrales. Les conidies résistent à la putréfaction, à la privation d'oxygène, au froid, à l'action des courants de haute fréquence. En résumé, la résistance aux variations physiques du milieu est indéfinie.

Il faut faire exception pour la chaleur : la limite de résistance paraît être de 80° à 85° à sec, de 75° à 80° à l'humidité (Lucet, Rénon). Les agents chimiques très énergiques, comme les acides sulfurique, azotique et phénique, le bichlorure de mercure, le sulfate de zinc, le chlorure de zinc, le nitrate d'argent (Lucet) arrivent seuls à détruire les conidies.

Elles traversent l'organisme vivant, de toutes les façons (tube digestif, péritoine, sang, etc.), sans altération apparente. La raison probable de leur résistance extraordinaire à un grand nombre de causes de destruction est qu'elles ne se laissent pas mouiller.

Il n'est pas très facile sur un milieu liquide de récolter des conidies en quantité suffisante (suffisante s'entend non pour obtenir les effets pathogènes, mais bien pour être maniée commodément et sans perte sensible). Aussi la plupart des auteurs se sont-ils adressés aux milieux solides : pain, pomme de terre, carotte, gélose. Le thalle repose alors sur une base solide qui l'empêche de fuir sous la pression de la palette qui sert à cueillir les conidies. Cette manière de procéder, en apparence très pratique, nous place en face d'une des plus grosses difficultés de la technique. Par la voie intraveineuse, la mort peut être attribuée, dans les premières heures, aux embolies causées par les agrégats de conidies, dans les heures suivantes, au développement du mycélium qui nécrose les tissus. Or, les barbes des palettes en platine, si doucement que l'on procède, arrachent des conidies et du mycélium, voire des cellules dissociées de la pomme de terre. Nous nous sommes assuré, en tamisant des récoltes ainsi obtenues sur de la soie à bluter, que le résidu s'élevait approximativement jusqu'à au quart, au tiers et à la moitié de la récolte brute. Le véhicule le plus employé est l'eau distillée, le bouillon, le sérum. Les conidies ne

se laissent pas mouiller ; on n'obtient qu'une suspension éphémère par l'agitation la plus prolongée. L'émulsion n'est pas homogène, sa teneur s'accroît rapidement du fond à la surface. Dans la seringue le mouvement ascensionnel continue, et si l'injection se fait de haut en bas, la totalité des conidies s'arrête dans l'embout de la seringue. On conçoit l'importance de ce fait, surtout dans l'usage d'émulsions pauvres. Dans ces conditions, la mesure préalable, par pesées par exemple, est tout à fait illusoire. Malgré cela, Rénon manifeste le souci constant de proportionner la quantité de conidies aux effets à obtenir, mais pratiquement l'emploi de la palette ne donne qu'une large approximation. Par la balance, on peut se convaincre aisément qu'une même palette emporte une quantité qui varie de 1 à 3.

Nous ne nous étonnerons donc plus en constatant les différences colossales dans les effets produits, qui existent entre les divers auteurs, et quelquefois chez le même auteur, toutes choses égales d'ailleurs, la mort survient au bout de 10, 20, 30 et 40 jours. A ce propos, on peut se rendre compte des difficultés qui entourent la recherche d'une thérapeutique théorique ou la réalisation d'une immunité. Le point de départ étant toujours incertain, par suite de l'impossibilité d'apprécier exactement la quantité de conidies introduite dans le sang, on ne peut arriver à des conclusions certaines.

Observations personnelles.

Aspergillus fumigatus.

Pour nos expériences, nous nous sommes servi d'un *Aspergillus* trouvé dans de très vieilles poussières. Les caractéristiques de ce Champignon sont :

Aspergillus vrai.

Épaisseur du mycélium stérile adulte	4 μ
Épaisseur du mycélium fertile adulte	6 μ
Longueur des branches fertiles	125-150 μ
Diamètre de la tête	18 μ
Longueur des stérigmates	7 μ
Largeur des stérigmates	2 μ
Grosseur des conidies	2,5 μ

Les stérigmates recouvrent les deux tiers de la tête.

Sur le liquide de Raulin, le thalle d'abord horizontal se plisse.

pour créer une surface irrégulièrement vallonnée; la couleur, à la fin du 2e jour, est blanc bleuâtre puis progressivement passe au vert tendre, au vert gris, puis légèrement foncé, pour atteindre, au bout de quatre semaines, un fond couleur de charbon de bois mal cuit avec une teinte plus foncée au sommet des petits mouvements dessinés par le thalle.

Sur gélose au liquide de Raulin, le thalle adhère fortement et reste absolument plan; la couleur évolue comme sur le liquide de Raulin, mais s'arrête au stade vert gris mat; au bout de quatre mois, elle ne s'est pas modifiée.

Sur pomme de terre et sur carotte cuites dans le liquide de Raulin, la couleur évolue comme sur gélose, avec cette différence cependant que la végétation partant de la piqûre fait tache d'huile et que l'on a, le quatrième jour, toute la gamme des teintes.

Sur chou-rave, la culture est tout à fait luxuriante, et l'hiver, l'emploi de ce légume est très avantageux.

Au sujet des variations de couleur des cultures, nous croyons utile de rapporter l'histoire d'une culture sur pomme de terre, qui après avoir présenté la teinte finale, uniforme, vert gris, s'est partagée en deux moitiés longitudinales, l'une ayant la teinte communément observée, vert gris, l'autre passant au noir de fumée par une transition insensible. Une coupe pratiquée dans la pomme de terre nous a montré la partie sous-jacente au noir absolument desséchée. Ce fait, comparé à ce qui se passe sur liquide de Raulin, où les parties les plus foncées sont les plus éloignées de la nappe liquide, nous conduit à penser que la couleur des conidies dépend pour une part de la proportion d'eau qu'elles contiennent. Nous devons ajouter que des cultures des deux portions, très scrupuleusement faites, nous ont donné le même *Aspergillus* vert gris.

Notre Champignon cultive de 15° à 48°. La température la plus favorable, au point de vue de la rapidité du développement du mycélium et des conidies, et surtout pour le nombre de ces dernières, est de 43°. Malgré cela, nous n'avons employé dans nos expériences que des conidies produites à 41°, ayant surtout en vue l'expérimentation chez les Oiseaux. A la température ambiante, 10° à 25°, le développement se fait bien, les milieux étant les mêmes, mais il se fait très lentement; il faut 4 semaines pour recouvrir 200^{cmq}, tandis qu'il faut 3 jours à 42°.

Nous nous sommes livré chemin faisant à quelques recherches comparatives sur les divers milieux. Comme nos devanciers, nous avons constaté deux classes bien distinctes, les milieux tirés de l'organisme animal, les milieux tirés des végétaux.

Les premiers, organes ou bouillons tirés de divers animaux, Chien, Chat, Cobaye, Pigeon, même additionnés d'acide tartrique, n'ont donné que de faibles résultats. En particulier pour les reins, le développement est insignifiant, fait absolument étonnant, ainsi qu'on l'a noté bien des fois, quand c'est dans le rein des Mammifères vivants soumis à l'inoculation intra-veineuse qu'on trouve le plus de mycélium. De même sur sang, muscle, rate, encéphale ; le meilleur résultat que nous ayons obtenu a été avec un sérum de sang de Chat et surtout sur du bouillon de foie du même animal, titrant 14 gr. 50 de glycose par litre. De plus, détail intéressant, notre *Aspergillus* donne, sur ces deux derniers milieux, la teinte semblable à celle qu'il acquiert sur liquide de Raulin.

Sur les milieux végétaux riches en amidon, la culture est magnifique, en particulier sur le blé mouillé, cuit ou cru. De 10° à 25°, ou à 41°, la croissance est rapide, les conidies très nombreuses, comme sur gélose et pomme de terre. Les têtes sporifères sont tellement rapprochées qu'elles se compriment mutuellement ; un choc sur le vase fait tomber des agglomérations qui se dispersent beaucoup plus facilement à 41° qu'à 10°-25°. Il semble donc se confirmer de plus en plus que, dans l'étiologie de l'Aspergillose des gaveurs, il faille incriminer plus le petit blé mouillé que le Pigeon lui-même, qui est victime, comme le gaveur, du peu de soins que l'on apporte à la préparation et à la conservation de la pâtée.

Lœwenberg (1883), a fait remarquer que les huiles et les pommades se décomposent facilement en donnant de la glycérine et des acides gras, ce qui constitue un milieu très favorable pour le développement de l'Otomycose. Partant de cette hypothèse, nous avons fait divers essais dans ce sens, mais nous avons complètement échoué ; à peine avons nous obtenu un léger développement de mycélium sur de l'axonge rance.

Enfin, notre *Aspergillus* ne pousse ni sur le tanin, ni sur la saccharose, ni sur la glycose à saturation.

Notre première préoccupation a été l'élimination du mycélium. Après avoir essayé de divers procédés, entre autres de la filtration

sur papier, ce qui est long et infidèle quant au nombre des conidies qui passent, nous nous sommes arrêté à la technique suivante :

Nous avons fait des cultures dans des fioles coniques, sur gélose; à partir du 6e jour jusqu'à 15e, un léger choc sur la paroi du vase détache les conidies que nous recueillons et nous tamisons sur de la soie à bluter présentant des ouvertures de 12 μ.

Ce tamisage est loin d'arrêter tout le mycélium : un examen attentif permet de voir des fragments, fins et peu nombreux, il est vrai, mais ils sont présents.

Pour faire des expériences comparables entre elles, il fallait assurer la constance de notre émulsion de conidies. L'emploi de la glycérine étant rejeté par Rénon à cause de sa toxicité propre, par tâtonnement, nous sommes arrivé à établir la formule suivante :

Conidies	0 gr. 005
Gomme arabique pulvérisée	0 gr. 010
Eau distillée q. s. pour	10 cc.

Cette émulsion est très stable.

D'une façon générale, il est prudent de ne pas employer une masse à injection dont le volume soit inférieur à un centimètre cube. En effet, chez de petits animaux comme le Pigeon, par exemple, la veine est à peine perméable à l'aiguille et la fausse route peut passer inaperçue.

Nous avons fait chaque fois des cultures de vérification, mais, comme nous nous en sommes déjà expliqué, ce procédé ne donne qu'une apparence de certitude. Tous les points de l'organisme sont infestés par les conidies, et les cultures sont toujours positives, quelle que soit la terminaison de l'expérience. En tous cas, nous reprocherons à la culture des organes sur liquide de Raulin de faire perdre un temps précieux. Dans le sein du liquide, la végétation est très lente, l'ascension du mycélium est à peine de 5 mm. par jour, tandis que la culture sur pomme de terre renseigne en 48 heures.

Aspergillus glaucus.

Primitivement nous avions l'intention de borner nos expériences à l'*A. fumigatus*, mais un heureux hasard nous ayant fait trouver deux autres espèces : *A. glaucus* et *A. niger*, nous les avons également soumis à l'expérimentation.

Notre *A. glaucus* présente les caractéristiques suivantes :

Aspergillus vrai.

Épaisseur du mycélium stérile	6 μ
Épaisseur du mycélium fertile	8 μ
Longueur des branches fertiles	125 à 200 μ
Diamètre de la tête	27 μ
Longueur des stérigmates	9 μ
Largeur des stérigmates	3 μ
Grosseur des conidies	3,5 μ

La tête sporifère n'est pas absolument sphérique, elle est notablement surbaissée et les stérigmates couvrent les deux tiers de la tête.

Sur gélose Raulin, la couleur blanche pour les pousses de 24 heures, passe au vert réséda puis au jaune de chrome au bout de 10 à 15 jours. Sur pomme de terre, carotte, chou-rave, la couleur est la même. Depuis huit semaines, nous n'avons pas observé de variation. La longueur des branches dressées uniforme sur gélose, est assez variable sur pomme de terre. Comme pour l'*A. fumigatus* l'optimum de végétation est à 43°, mais la différence existe surtout dans la rapidité d'extension du thalle. Les conidies soumises à l'expérimentation provenaient de culture à 41°.

Aspergillus niger.

C'est un *Aspergillus* vrai.

Épaisseur du mycélium stérile	7 μ
» » fertile	9 μ
Longueur des branches fertiles	200 μ
Diamètre de la tête	30 μ
Longueur des stérigmates	9 μ
Épaisseur des stérigmates	3,5 μ
Grosseur des conidies	4 μ

La tête est sphérique ; les stérigmates en recouvrent les deux tiers.

Sur gélose Raulin, la couleur, blanche pour les parties vieilles de 24 heures, passe rapidement au noir absolu. Sur pomme de terre, chou-rave, la couleur est la même, mais sur carotte elle est cacao. De plus, les têtes sporifères, au lieu d'être en contact, sont assez éloignées les unes des autres, et sur carotte les hyphes présentent des longueurs variant du simple au double. Depuis huit

semaines, nous n'avons pas observé de variation. Comme l'*A. fumigatus* et l'*A. glaucus*, notre *A. niger* pousse bien de 10°-25° à 48°. La seule différence est dans la rapidité du développement, qui présente son maximum à 43°. Nous ne nous sommes servi que de conidies arrivées à la température de 41°.

La technique est identique à celle suivie pour l'*A. fumigatus*.

VARIATIONS DE LA RÉCEPTIVITÉ DES ESPÈCES ANIMALES. L'INFECTION ET SES CONSÉQUENCES.

Nous envisagerons brièvement le choix des animaux utilisés en Aspergillose expérimentale.

Mammifères. — Le Singe, soumis à l'expérimentation par Dieulafoy, Chantemesse et Widal, reçoit l'infection.

Le Chat est loin d'être réfractaire à la septicémie expérimentale, mais comme c'est un animal incommode et dangereux, il a été peu employé.

Avec le Chien, nous avons à considérer deux lots : un lot ayant subi des infections associées (Saxer), un autre lot qui nous présente 60 °/₀ d'insuccès dus certainement à la très faible quantité de conidies employée relativement au poids de l'animal comparé à celui d'un Lapin ou d'un Cobaye.

Le Mouton n'est pas un sujet banal d'expérience ; Lucet est le seul qui l'ait employé ; insuccès total d'ailleurs. Toujours comme pour le Chien, la quantité de conidies est tout-à-fait insuffisante.

Le Lapin est le sujet de choix, à cause des veines auriculaires facilement accessibles. La non-réussite est l'exception (3 ou 4 °/₀), quoique les auteurs nous laissent généralement dans l'ignorance de leurs expériences négatives. Grâce au compte-rendu de Rénon, on peut arriver à la conviction certaine que la rapidité de la mort est proportionnelle à la quantité de conidies introduites dans le sang. Kaufmann avait déjà fixé à 0 gr. 0001 la quantité nécessaire pour amener la mort en huit jours. L'échec, dans quelques cas, est dû à la quantité infime employée, comme, par exemple, dans les expériences de Rénon recherchant la vaccination. Dans d'autres cas, très rares il est vrai, une quantité colossale (0 gr. 02, 0 gr. 03, approximativement), n'a pas produit d'effet sensible.

Pour le Cobaye, la difficulté de découvrir les jugulaires et les variations fréquentes de celles-ci, font qu'il est peu employé. La mort, en moyenne, se produit de 2 à 18 jours après l'infection. Dans le péritoine, la mort, inconstante d'ailleurs, arrive vers le 15e jour. Il est très sensible à l'infection pleurale et, par cette voie, meurt en 3 à 4 jours, ce qui est à rapprocher des résultats négatifs de Saxer, chez deux Souris blanches.

Oiseaux. — Le Pigeon, très fréquemment choisi, est très sensible, trop sensible même : la mort est constante du 2e au 5e jour, quelquefois plus rapide encore. Tous les procédés sont certains : l'injection dans les veines, le spray, l'inhalation de poussières donnent une mort certaine.

La Poule, employée par Lucet, meurt vers le 4e jour après l'inoculation intraveineuse. Par la trachée, la mort est moins sûre, mais il y a toujours lésion du poumon.

Le Canard reçoit l'infection, d'après Dieulafoy, Chantemesse et Widal.

L'Oie meurt du 5e au 9e jour après l'introduction de conidies dans les veines (expérience de Lucet).

Seul, Lucet s'est livré à des recherches expérimentales systématiques sur les œufs. Il a vu des conidies, accolées à des œufs intacts en incubation, germer, envoyer des prolongements mycéliens à travers les pores de la coquille et la membrane coquillère, plonger dans la chambre à air et même dans l'albumine et le vitellus. La seule condition nécessaire pour cela est de faire adhérer les conidies à la coquille par l'intermédiaire d'un corps gras.

Enfin Rénon a introduit des conidies dans les sacs lymphatiques de Grenouilles sans retentissement marqué sur l'état des sujets.

Il n'y a donc pas, jusqu'à présent, d'animal à sang chaud réfractaire à l'Aspergillose expérimentale.

En Aspergillose expérimentale, on a appliqué le programme général suivi dans l'étude des infections microbiennes, c'est-à-dire que les voies d'infection sont nombreuses et les résultats très divers. Nous les passerons rapidement en revue, en indiquant le plus brièvement possible les faits intéressants mis en lumière.

Dans le muscle et dans le tissu cellulaire sous-cutané, on a un abcès local, rapidement enkysté et jamais de généralisation.

Rénon seul a obtenu une mort par ce procédé. Par la voie lymphatique (expérience due à Rénon, comme nous l'avons vu précédemment), les conidies se disséminent dans tout l'organisme sans effets pathogènes appréciables ; elles produisent, dans la chambre antérieure de l'œil, une ophtalmie avec hypopyon ; on retrouve du mycélium inaltéré.

Dans les séreuses, les résultats sont plus intéressants. L'introduction des conidies dans le péritoine n'a pas forcément une issue fatale. Quand la mort se produit, elle survient généralement vers le 20me jour. On trouve des tubercules disséminés sur toute la surface du péritoine, quelquefois un abcès enkysté qui se vide par l'intestin.

Dans les plèvres, pleurite diffuse ; la mort, qui survient généralement du 5me au 6me jour, est rare. Dans cette première série d'expériences, les résultats sont inconstants, mais il n'y a pas germination des conidies.

Pour le poumon, deux voies d'accès. Par injection en plein tissu à travers la paroi, la terminaison est variable : un abcès local, exceptionnellement généralisation. Par la trachée, il faut établir deux cas bien distincts : chez les Mammifères, les auteurs s'accordent à considérer les inoculations comme bénignes, même à dose massive, quoique les conditions biologiques soient très favorables. Chez les Oiseaux, résultat positif constant, la non-réussite est l'exception.

Enfin l'infection par le tube digestif n'a pas encore été réalisée. Quand la mort survient, c'est du fait de l'introduction des conidies dans la trachée.

Nous abordons ici le mode d'infection le plus communément employé : la voie sanguine. Disons tout d'abord que par la carotide on a des lésions mycosiques de l'encéphale et en particulier de la rétine.

La voie veineuse a de beaucoup la faveur des expérimentateurs. Elle donne les résultats les plus constamment comparables. La veine auriculaire du Lapin, la veine jugulaire du Cobaye, la mésaraïque de ces deux animaux, les fémorales du Chien et l'axillaire des Oiseaux, telles sont les voies suivies.

Les conidies sont dans le sang, elles vont se disséminer ainsi dans tout l'organisme, leurs dimensions étant de beaucoup infé-

rieures à celles des plus petits capillaires. D'une façon générale, les lésions se trouveront dans les capillaires. Le premier effet est de provoquer une leucocytose abondante. A l'œil nu, dans les lésions récentes, on trouve de petits points blancs entourés d'une zone hyperémiée d'une part, des foyers de nécrose souvent abcédés d'autre part.

Si nous passons en revue les divers organes lésés, on n'a jamais constaté de tubercules dans l'œsophage, rarement dans l'estomac, un sixième des cas dans l'intestin (Rénon, p. 107).

Les séreuses sont exceptionnellement atteintes. Il n'existe qu'un cas de lésion de l'encéphale (Lucet). Chose paradoxale au premier abord, il n'y a de lésions pulmonaires qu'assez rarement, quel que soit le sujet en expérience. Dans les premières heures, on trouve des hyphes sporifères assez abondantes, le poumon étant le premier obstacle (ses capillaires sont les plus petits de l'organisme, 8 à 10 μ). De plus, les anastomoses de l'artère pulmonaire avec la veine pulmonaire facilitent l'évacuation du poumon. Le tissu pulmonaire ne paraît pas être un milieu d'élection pour le Champignon (R. Boyce, Max Podack). Cohnheim avait déjà signalé le mycélium se développant dans l'alvéole, mais ne se propageant pas dans les tissus voisins.

Chez les Mammifères, le foie est relativement peu atteint ; chez les Oiseaux au contraire, c'est l'organe qui est le plus constamment lésé. On constate des foyers de nécrose de dimensions variables (depuis un demi-millimètre de diamètre jusqu'à un centimètre, quelquefois plus). Si les nodules sont gros, ils sont peu nombreux et la mort est lente. Si, au contraire, ils sont très petits, ils sont très nombreux et la mort est relativement hâtive (Rénon, p. 105). Les reins sont profondément atteints chez les Mammifères (exceptionnellement chez les Oiseaux). Ils sont augmentés de volume, bosselés par des points blancs de dimensions variables, au niveau desquels la capsule est adhérente.

Les points blancs s'enfoncent perpendiculairement à la surface, se dirigeant vers le hile, sans cependant l'atteindre jamais. Ce sont des lésions de nécrose qui peuvent aller jusqu'à la fonte purulente, si la mort est retardée. Mais il faut noter qu'en dehors des nodules les éléments du rein ne sont pas altérés, il n'y a pas de lésion de néphrite.

La rate présente rarement des nodules, ce qui est à opposer à la constance des lésions hépatiques.

Enfin, les muscles présentent des nodules de forme allongée suivant le sens des fibres, mais ces lésions ne sont pas constantes.

Tous les auteurs ont été frappés par cette élection particulière pour le foie et les reins : pour l'expliquer, on a émis bien des hypothèses sans arriver à un résultat satisfaisant. Sans avoir aucunement la prétention de résoudre le problème, qu'on nous permette cependant deux observations : la première fondée sur la disposition des capillaires ; la seconde sur les mouvements propres des organes. Le poumon avec ses capillaires très petits n'est presque jamais atteint chez les Mammifères ; les mouvements respiratoires de grande amplitude suffisent à faire progresser les conidies. Chez les Oiseaux, au contraire, où le poumon est à peu près immobile, la lésion est la règle. De même, le muscle avec ses capillaires, souvent d'un diamètre inférieur à celui des globules, est rarement atteint. Quand la lésion existe, elle consiste dans un nodule allongé correspondant nettement à l'emplacement d'un capillaire. Au contraire, dans le foie et les reins, organes non susceptibles de mouvements d'expansion et de retrait, la lésion est la règle. Dans le foie, le nodule est intralobulaire. Dans les reins, la nécrose est commandée par la thrombose de l'artère glomérulaire, tout le labyrinthe dépendant est frappé de mort ; c'est pour cela que le nodule a la forme typique décrite précédemment. De plus, les artères lobulaires se résolvant en capillaires radiés, on a l'explication des dispositions radiées des branches de mycélium.

Quel est le lien qui réunit à l'analyse microscopique les diverses lésions de l'Aspergillose, spontanée ou provoquée ? Ici comme en clinique, on constate la plus grande ressemblance avec la tuberculose et c'est pour cette raison que l'affection est classée dans les pseudo-tuberculoses. Il y a un tubercule aspergillaire, « l'Aspergillome », dans lequel on a pu mettre quelquefois en évidence la cellule géante, exactement superposable au Tuberculome avec cellule géante type, mais il faut, pour que cette lésion caractéristique puisse se produire, que la mort du sujet ne soit pas trop rapide (12 jours).

Comment s'acquiert la preuve de l'origine aspergillaire des

lésions? On a deux moyens pour cela : 1° cultiver un fragment d'organe lésé; 2° mettre en évidence le développement du mycélium. Or les conidies sont rapidement disséminées dans le sang : un organe sans lésions appréciables, tout comme un tubercule, donnera une culture positive. Ce premier moyen est donc tout à fait illusoire. Passant au second moyen, voyons quelle est l'évolution du mycélium, car c'est surtout à la germination des conidies et au développement du mycélium qu'est due l'action pathogène de l'*Aspergillus*.

Le premier fait unanimement admis est que, sur la quantité considérable de conidies introduites dans un organisme, un nombre tout-à-fait infime arrive à se développer. L'évolution a été suivie depuis la 18me heure qui suit l'inoculation : le mycélium ne se présente jamais en thalle organisé. il est même rare, toujours très fin ou très court, exceptionnellement rameux. Le maximum d'abondance se présente vers la 24me heure, puis le mycelium diminue graduellement pour disparaître totalement vers le sixième jour (Kaufmann, Lucet, Rénon, Ribbert, etc.) Parallèlement, il prend de plus en plus mal la couleur, et longtemps avant sa disparition, il ne la prend plus du tout. Ce mycélium meurt sous l'action des leucocytes. En effet, dès la 18me heure qui suit l'introduction des conidies, les leucocytes commencent à les englober. Or nous avons vu que, dans les meilleures conditions de milieu et de température, il faut 20 heures pour obtenir du mycélium; que, *in vitro*, sur des milieux tirés de l'organisme, il faut 40 heures. On arrive donc à la constatation d'un fait paradoxal : les conidies sous l'action des leucocytes se développeraient moitié plus vite. La conclusion qui s'impose est que le mycélium trouvé dans les organes est celui que l'on a introduit avec les conidies, étant donnée l'impossibilité matérielle, facile à constater, de l'éliminer de la masse à injection. En tous cas, les filaments sporifères avortés, signalés par Kaufmann, sont des appareils conidiens ayant perdu leurs chapelets de conidies. Ce sont eux qui créent les formes dites actinomycosiques de Laulanié, Ribbert, Rénon, Lucet et Levaditi.

Il y a encore deux faits qui concourent à créer cette conviction, c'est que, dans les cas d'Otomycose, jamais le mycélium ne s'enfonce dans la profondeur des téguments. De même, dans les cas de Kéra-

tomycose, le mycélium ne pénètre pas dans les tissus sains (Fuchs). Enfin, dans le cas de Cohnheim, le mycélium ne pénétrait pas dans le tissu pulmonaire, où cependant il aurait dû trouver un milieu nutritif plus riche. Ces réserves faites sur l'origine du mycélium, quelles sont les causes de la mort ? Comme il ne paraît pas y avoir de toxines, c'est le traumatisme local qui doit être incriminé. Le sujet meurt soit par la multiplication des foyers de nécrose qui détruisent une portion notable d'organes importants, comme le foie et les reins, soit par l'étendue de la réaction inflammatoire. Olsen et Gade estiment à un milliard de conidies le nombre suffisant pour amener la mort. Quelle que soit la cause de la mort dans la septicémie expérimentale aspergillaire, il faut remarquer qu'elle se présente rarement à l'état spontané et que, jusqu'à présent, on n'a pas réalisé expérimentalement la lésion commune, savoir le développement et l'organisation d'un thalle dans une cavité naturelle : conduit auditif, fosses nasales, trachée, bronches, poumons. C'est le but du présent travail.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

Choix des sujets d'expérience.

En commençant nos expériences, nous avions comme but principal la réalisation de l'affection telle qu'on l'a trouvée à l'état spontané chez les Oiseaux, à savoir : le développement du mycélium dans les sacs aériens et son extension aux voies bronchiques. Cette lésion, de beaucoup la plus fréquente, n'a pas été systématiquement recherchée par les expérimentateurs. En effet, la question, depuis son entrée dans la phase expérimentale, a dévié immédiatement vers la recherche d'un parallélisme à établir entre l'Aspergillose et les maladies microbiennes en général. Cependant, ayant trouvé un *Aspergillus* que tous ses caractères désignent comme l'*A. fumigatus*, il était d'abord nécessaire d'établir son action en suivant les méthodes classiques. C'est pour cela que nous étudierons son action sur le Cobaye, le Pigeon et les œufs en incubation. En second lieu, nous nous sommes adressé aux Reptiles pour la raison très simple que leurs poumons présentent de spacieuses cavités où rien ne vient gêner le développement du

Champignon avant qu'il ait atteint un notable développement. Nous n'avons employé la Grenouille que dans le but de répéter les expériences de Rénon sur la dissémination des conidies par la voie lymphatique.

ÉTUDE CLINIQUE DE LA MALADIE.

Comme il est peut-être un peu trop élémentaire de constater simplement la survie ou la mort d'un sujet après l'introduction de conidies par une voie quelconque, nous avons essayé de suivre d'aussi près que possible les variations de l'état général. Ces variations, on le conçoit aisément, se traduisent par des manifestations peu nombreuses.

Les variations du poids donnent les indications les plus constantes et les plus sûres, en tenant compte cependant de certaines particularités. Un Cobaye, par exemple, a toujours dans ses voies digestives 1/10 de son poids total, en aliments. Par conséquent, la première pesée faite au bout de 24 heures donnera une chute brusque si l'animal ne s'alimente pas. Les jours suivants la perte est de 1/20 ; quand le total atteint 1/3, la mort est imminente.

Parallèlement aux variations du poids, la mesure du volume de l'urine excrétée donne d'excellentes indications. On a ainsi une mesure exacte de l'activité physiologique de l'animal. Un Cobaye en bonne santé élimine, en moyenne quotidienne, le 1/5 du poids du corps, et l'urée, en moyenne quotidienne, a des variations proportionnelles.

Chez le Pigeon, les variations du poids sont moins instructives, parce que l'animal fait deux ou trois repas dans la journée ; le poids du repas est de 1/6 du poids du corps, ce qui donne des variations considérables chez un sujet sain.

La température ne donne pas de renseignements constants. Chez nos Cobayes, elle n'a pas été sensiblement influencée. A l'état de santé, ces animaux, par suite de leur petite taille, ont des variations très considérables : 1° et 1°5. Nous n'avons eu d'indication que dans un cas d'abcès péritonéal (exp. n° 7). En général, la température basse, 32° à 30°, indique la mort très prochaine, ce qui est banal, mais non tout à fait inutile à noter.

Chez le Pigeon, ce moyen d'investigation est tout ce qu'il y a de plus incertain, si l'on ne surprend pas l'animal et si l'on ne prend

pas la température avec la plus grande rapidité. Une expérience facile à réaliser nous l'a clairement montré. Un Pigeon en bonne santé donne à 4 h. 50 une température de 41°5. Il est mis en liberté et pourchassé sans trêve pendant une minute, la température est de 43°5 et elle ne revient à 41°5 qu'au bout de 40 minutes.

Cette petite expérience, que nous avons répétée plusieurs fois, montre la délicatesse de cette investigation chez un animal aussi sensible. Peut-être avons-nous ainsi la clef des variations de 1° à 1°5 obtenues par Lucet dans ses expériences sur la toxine de l'*Aspergillus*. Ces réserves faites, avec toutes les précautions possibles, nous n'avons pas noté de variations notables de la température chez nos Pigeons.

En résumé, le poids seul nous donne des renseignements sur l'état d'un sujet ; sa température, son faciès varient trop souvent sans causes appréciables, même à l'état de santé.

Nous exposerons successivement les recherches que nous avons faites avec l'*Aspergillus fumigatus*, avec l'*A. glaucus*, avec l'*A. niger*, avec la Levure blanche trouvée dans le poumon de deux *Testudo græca*. Nous rattacherons aux expériences avec l'*A. fumigatus*, celles que nous avons faites avec les conidies stériles d'*A. fumigatus*, l'émeri, le Lycopode et les divers corps étrangers que nous avons introduits dans les sacs aériens de nos Pigeons pour essayer d'analyser les phénomènes qui se passent dans ces sacs.

Aspergillus fumigatus.

Nous n'entrerons pas dans le long et fastidieux détail de toutes nos expériences, surtout chez le Cobaye, expériences que nous n'avons entreprises que pour établir la virulence de nos Champignons.

Cobaye. — Expériences 1, 2 et 3. — Ces animaux ont reçu dans la veine jugulaire 0 gr. 01 de conidies pour les deux premiers, 0 gr. 02 pour le deuxième ; ils sont morts respectivement 3, 1 et 5 jours après l'injection, avec les lésions classiques des poumons, foie, rate et reins. A l'examen, les tubercules sont constitués par des leucocytes, englobant des conidies ; avec la potasse à 2,5 %, on peut mettre en évidence des fragments de mycélium, des appareils conidiens dépourvus de spores. Les cultures de vérification

sont naturellement positives. D'ailleurs du sang, des fragments de muscles, prélevés avec toutes les précautions désirables ont donné des cultures positives.

Exp. 4. — Ce sujet a reçu par trachéotomie une émulsion de 0 gr. 004 de conidies. Son état général n'ayant pas varié, nous l'avons sacrifié au bout de dix jours, croyant le trouver indemne de toute lésion (il avait, dans un accès de toux, rejeté une quantité indéterminée de l'émulsion). A notre grande surprise, nous avons trouvé les deux poumons occupés par de nombreux foyers d'hépatisation, mais pas trace de mycélium.

Exp. 5. — Cet animal a reçu par trachéotomie une émulsion de 0 gr. 01 de conidies; il meurt le 4me jour, ayant perdu 100 gr. Les poumons présentent de nombreux foyers d'hépatisation, mais sans développement de mycélium. De plus, il y a généralisation, le foie, les reins, sont criblés de tubercules, relativement moins nombreux dans la rate.

Exp. 6. — Nous introduisons dans le péritoine 0 gr. 001 de conidies. Le poids de l'animal passe de 750 à 620 gr. en 7 jours; le 6me jour, la température atteint 38°4; le lendemain il s'écoule du pus par l'anus. Le 17me jour, le poids primitif étant récupéré, nous sacrifions le Cobaye. A l'autopsie, péritonite généralisée, les anses intestinales adhèrent déjà solidement, la séreuse est criblée d'amas leucocytiques où l'on trouve des conidies. Des ensemencements précis montrent que toutes les conidies sont rassemblées dans ces amas. Enfin, détail intéressant, une anse intestinale est solidement fixée à la paroi abdominale antérieure et présente une large perforation par laquelle s'est vidé un abcès de la grosseur d'une noisette (Rénon avait déjà eu un cas à peu près semblable : ascite et perforation intestinale). Nous avions ainsi l'explication de la perte de pus par l'anus.

Telles sont, brièvement rapportées, nos expériences sur le Cobaye. Notre *A. fumigatus* s'est montré conforme, dans son action pathogène, aux données antérieurement établies.

Pigeon. — Nous avons fait huit expériences par la voie veineuse, expériences peut-être trop nombreuses relativement à l'intérêt qu'elles présentent, mais nous avions le désir d'établir la dose de conidies nécessairement mortelle.

Exp. 7, 8, 9, 10 et 11. — De 0 gr. 002 à 0 gr. 005 les sujets sont

morts de la 20me à la 37me heure ; les lésions, peu caractéristiques, se bornent à de la congestion du poumon, à des suffusions sanguines et à des infarctus du foie, dont le poids est augmenté de moitié. On peut mettre, rarement il est vrai, des appareils conidiens en évidence.

Exp. 12, 13, 14, 15. — Dans le second lot, les résultats sont plus nets, la mort s'est produite le 3me jour, le poids des conidies variant 0 gr.00001 à 0 gr. 00005 ; le foie est l'organe constamment lésé, les tubercules miliaires sont confluents. Le poumon ne présente pas généralement de lésions apparentes. L'existence des granulations facilite la recherche du mycélium. On trouve ce dernier en très petite quantité, en fragments se colorant mal, mais avec de très nombreuses conidies.

Exp. 16. — Nous introduisons dans la loge du foie 0^{gr}0015 de conidies. Le sujet meurt le 2me jour. A l'autopsie, le foie est adhérent au péritoine, il est friable ; sur les parties libres, on voit des placards blancs constitués par des leucocytes englobant des amas de conidies ; pas de mycélium. Les lésions sont identiques à celles que l'on observe chez le Cobaye.

Exp. 17, 18. — Ces deux Pigeons ont été traités de façon semblable. Tous les jours nous avons déposé dans les plis conjonctivaux des deux yeux une quantité modérée de conidies ; la conjonctive gauche ayant été lésée préalablement, la droite restant intacte. L'œil sain n'a été aucunement influencé. A gauche, il s'est naturellement produit du larmoiement et une inflammation assez intense. Le n° 18 a seul présenté un léger développement de mycélium. Nous nous proposions de continuer l'expérience, quand le 7me jour, nos deux Pigeons sont morts subitement, à notre grande surprise. A l'autopsie, on trouve les voies bronchiques et les sacs criblés de placards blancs constitués par des leucocytes englobant des conidies. Comment s'était produite l'infection ? D'une façon très-simple : les deux Pigeons, très jeunes, enfermés dans la même cage, se demandaient réciproquement à manger. Les battements d'ailes ont dispersé les conidies dans l'air et l'infection s'est produite. Ce fait peut nous donner une explication assez satisfaisante des épizooties de pigeonnier : que l'on suppose une colonie d'*Aspergillus* végétant dans un coin, les animaux, dans leurs querelles, par exemple, peuvent s'infecter facilement.

Exp. 19. — Ce sujet présentant une large plaie accidentelle, nous y avons quotidiennement déposé une petite quantité de conidies. La mort s'est produite naturellement le 16me jour. Malgré une observation répétée chaque jour et très attentive, nous n'avons pu déceler la moindre trace de mycélium.

Exp. 20. — Cet animal a reçu par insufflation une quantité indéterminée de conidies sèches. Le procédé est tout ce qu'il y a de plus incommode et de plus infidèle. Les conidies à l'état sec sont difficiles à manier, on en disperse involontairement une certaine quantité. La masse se rassemble souvent en un point limité de la trachée, l'animal en rejette une notable quantité si l'on n'emploie pas une sonde très-longue. Ces raisons suffisent à expliquer les résultats contradictoires obtenus par nos devanciers. Malgré cela, notre sujet est mort le 2me jour, présentant un catarrhe intense des bronches. Dans ce cas particulier, les conidies n'avaient pas atteint les sacs.

Exp. 21. — Nous poussons par la glotte, à l'aide d'une très longue sonde, et cela très rapidement, une émulsion de 0 gr. 001 de conidies dans 2 cc. d'eau. La mort survient le 2me jour. A l'autopsie, on voit des foyers confluents d'hépatisation à la partie postérieure des deux poumons. Les sacs sont vascularisés, sans cependant présenter des foyers visibles à l'œil nu.

Exp. 22. — Traité de la même façon que le précédent, ce Pigeon meurt le 2me jour. A l'autopsie, il présente les mêmes lésions, mais beaucoup plus intenses. La bronche gauche est obstruée par un bouchon long de 1^{cm}2, constitué par des leucocytes. De plus, il existe de petits placards blancs dans tous les sacs. Ces placards, que nous trouverons dans tous les cas d'infection des sacs par de grandes quantités de conidies, sont formés par des leucocytes englobant un nombre considérable de conidies.

En résumé, par ce mode d'inoculation la mort survient par asphyxie et par l'intensité vraiment considérable de l'inflammation. Le poumon étant à peu près immobile, l'Oiseau ne peut se débarrasser des sécrétions. Nous devons ajouter que nous n'avons pas observé le développement du mycélium.

Sacs aériens. — Jusqu'à présent, quelle que soit la voie d'inoculation suivie, nous n'avons pas observé le développement du mycélium. Les sujets meurent trop rapidement : 20 à 72 heures après le

début de l'expérience. On conçoit que ce temps est insuffisant pour permettre la constitution d'un thalle de quelque importance.

Pour éviter l'inflammation rapidement mortelle des poumons, nous avons introduit directement les conidies dans les sacs aériens. Pour bien faire comprendre la valeur de ces nouvelles expériences, il est nécessaire d'indiquer en quelques mots la topographie de ces sacs et les voies d'accès chez le Pigeon.

Pour simplifier la nomenclature, nous désignerons les sacs par les lettres A, B, C, en allant de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure de la cage thoracique pour le côté droit ; A′, B′ et C′

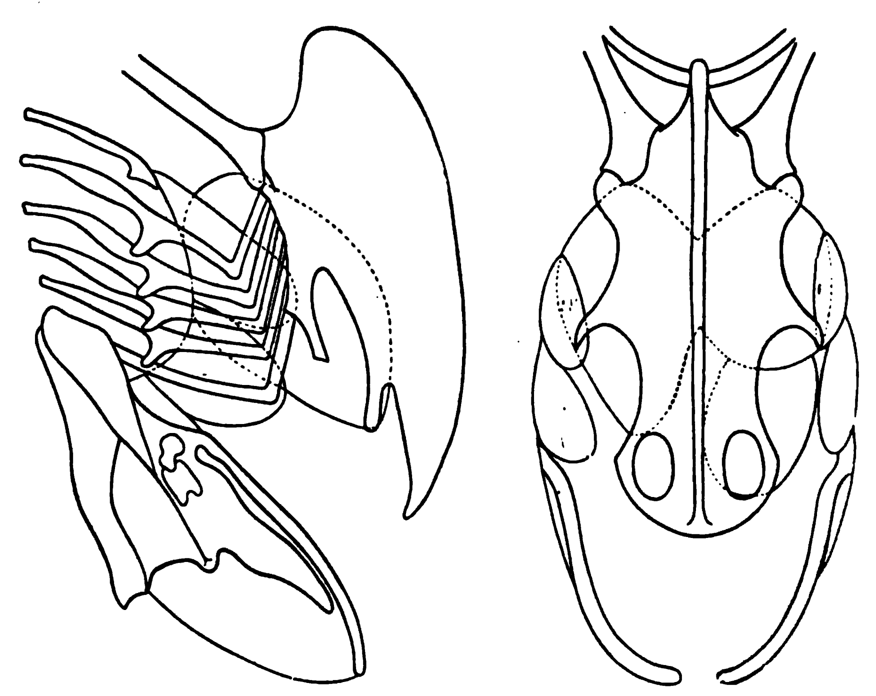


Fig. 4. — Sacs aériens du Pigeon, vue latérale. × 2/3.

Fig. 5. — Sacs aériens du Pigeon, vus de face. × 2/3.

désignant les homologues du côté gauche. De plus, remarquons que le volume de ces sacs varie constamment, suivant les mouvements respiratoires, et que leur extrémité terminale est sujette à de notables déplacements.

Si l'on suppose l'animal couché sur le côté, le sac A, partant du

bord supérieur du poumon, s'insinue entre la paroi thoracique et le foie. Le sac B, partant du bord externe, se place entre la paroi d'un côté, la partie inférieure du foie et la masse intestinale de l'autre. Enfin le sac C passe entre le rein et la masse intestinale du même côté. Ces sacs sont symétriques en nombre et en forme.

Les voies d'accès sont extrêmement délicates à suivre d'une manière certaine. Le plus accessible est le sac B et encore est-il limité par l'os iliaque en arrière, la dernière côte en haut, le grand pectoral en avant et la cavité péritonéale en bas ; cela donne un champ de $0^{cm}5 \times 1^{cm}$. De plus, il y a dans la profondeur, le foie qui, suivant les mouvements respiratoires, vient au contact de la paroi ou s'en éloigne de $0^{cm}1$ au maximum.

Pour introduire les conidies, on peut, avec une aiguille, ponctionner dans le petit espace ainsi délimité et pousser l'injection. Ce moyen, qui réduit l'effraction au minimum, est très délicat à employer. On n'est pas certain du sac atteint, l'injection peut se perdre dans le tissu pulmonaire et tuer rapidement l'animal ; elle peut pénétrer dans la loge péritonéale occupée par le foie ou bien dans le péritoine intestinal.

Ces difficultés nous ont conduit à suivre le mode opératoire suivant : faire une incision sur le bord du pectoral, incision partant de la dernière côte et longue de 10 à 15^{mm}, il est inutile de prolonger l'incision en bas, car on tombe dans le péritoine intestinal. On accède ainsi au sac moyen B, qui est de beaucoup le plus favorable à tous les points de vue ; en particulier, il communique très largement avec les bronches et sa cavité peut atteindre 3^{cc}.

Exp. 23. — Avec une seringue de Pravaz nous injectons en B et en B′ 0gr001 de conidies dans 1^{cc} d'eau. La mort survient la 20me heure. A l'autopsie, les parois de B et B′ sont accolées complètement, la cavité n'existe plus. On y trouve des leucocytes peu abondants, il est vrai, et les conidies introduites.

Une remarque s'impose ici : nous croyons inutile de répéter une injection sur le même sac ; la cavité ayant disparu, l'injection se perdra fatalement dans la loge du foie qui se trouve alors contiguë à la paroi.

Ce mode d'inoculation nous donnant les mêmes résultats que la voie trachéale : mort rapide, diffusion des conidies par l'émulsion dans tout le système pulmonaire, nous nous sommes décidé à

ouvrir largement les sacs. C'est par cette méthode que nous sommes arrivé à obtenir des résultats quelque peu intéressants.

Exp. 24. — Nous incisons B' suivant le mode opératoire que nous venons de décrire. Immédiatement une hémorrhagie abondante se déclare et, malgré nos efforts, le sujet meurt 3 heures après. Ce fâcheux résultat pour notre début ne laisse pas que de nous troubler, aussi l'autopsie est-elle pratiquée immédiatement. Nous constatons une déchirure ancienne de l'œsophage causée par le gavage. Le bol alimentaire a rempli B'.

Les parois de ce sac sont épaissies de 0cm1 et très vascularisées. Notre incision portant sur cette membrane a causé une perte de sang de 3 à 4 gr., ce qui est considérable. En effet, un Pigeon saigné à blanc ne donne guère plus de 12 à 15 gr. de sang. Malgré ce délabrement considérable, l'animal présentait toutes les apparences d'une bonne santé. Ce fait d'ailleurs n'est pas rare, nous l'avons observé 4 fois sur 39 sujets.

Nous ne rapportons cette expérience arrêtée dès le début que pour donner un exemple des surprises qui attendent l'opérateur chez le Pigeon.

Exp. 25. — Nous incisons B' puis touchons légèrement la paroi avec une palette de platine stérilisée trempée dans des conidies sèches. Le 22me jour, la plaie se rouvre et constitue une fistule par laquelle on peut voir le mycélium arriver jusqu'aux bords de l'orifice. Les jours suivants, le mycélium est éliminé progressivement, mais la fistule ne se ferme pas. Nous sacrifions l'animal le 50me jour après le début de l'expérience. A l'autopsie, la communication avec les bronches n'existe plus; la cavité du sac est considérablement réduite, une masse jaune clair, de consistance ferme et élastique occupe l'espace libre; vis-à-vis de la fistule, on voit une nappe de mycélium de la dimension d'une lentille; pas de fructification.

Exp. 26. — Même mode opératoire que pour le nº 25, sur le sac C'. Le 25me jour, il se forme une fistule par laquelle on voit le mycélium développé. Comme pour le nº 27, le mycélium est progressivement éliminé. Nous sacrifions l'animal 43 jours après le début de l'expérience. Les lésions sont en tout superposables à celles de l'expérience 25.

Exp. 27. — Même mode opératoire que pour le nº 25. L'état

général ne paraissant pas modifié, nous sacrifions l'animal 29 jours après le début de l'expérience. Le résultat est totalement négatif.

Exp. 28. — Mode opératoire comme pour le n° 25. Il ne se produit pas de fistule. L'état général ne paraît pas influencé. Nous sacrifions le sujet 18 jours après le début de l'expérience. A l'autopsie, la communication avec la bronche est fermée. Le sac est occupé par une plaque lardacée se moulant sur les parois et réduisant la cavité de moitié. Au centre, sur toute la face interne de cette plaque, il existe un feutrage de mycélium très apparent.

Exp. 29. — Jusqu'à présent nous n'avons observé que des lésions anciennes limitées à un sac, constituées par un mycélium peu abondant reposant sur une couche lardacée atteignant jusqu'à 2mm d'épaisseur. Avec l'expérience présente, identique dans son mode opératoire aux précédentes, nous obtenons un résultat tout à fait intéressant. Ce Pigeon meurt le 3e jour qui suit l'expérience. A l'autopsie, nous trouvons A et B complètement recouverts d'un feutrage continu de mycélium qui envahit même le début des bronches. Le développement du Champignon a été si rapide et si intense que l'animal n'a pas eu le temps de séquestrer la région lésée. Les parois des sacs sont déjà épaissies et vascularisées et la réaction du voisinage est très violente. En particulier, le foie friable est adhérent à son péritoine pariétal.

Il restait à s'assurer si le développement rapide du Champignon ne se produisait pas *post mortem* et si la température et le degré de distension des sacs ne pouvaient pas être considérés comme des facteurs importants.

On sait que la plupart des Oiseaux domestiques ont l'habitude de piétiner les cadavres de leurs congénères et de se coucher dessus, leur conservant ainsi une température plus élevée que celle du milieu ambiant. Le sujet n° 30, laissé 48 heures à l'étuve à 38°, n'a rien présenté dans ses sacs, à peine un peu de mycélium dans une plaie cutanée ouverte. Les sujets 31 et 32 ayant la trachée en communication avec un récipient contenant de l'oxygène, placés à l'étuve, n'ont absolument rien présenté. Les sujets 17, 18 et 35 à 10°-25° (températures extrêmes du laboratoire) n'ont également rien donné.

Tortue. — Nous avions fixé notre choix sur la Tortue surtout à cause de la conformation du poumon. Par curiosité, nous avons

expérimenté par la voie veineuse ; comme on peut s'y attendre les résultats n'ont pas été concluants. Aussi n'insisterons-nous pas sur ces expériences.

Exp. 36, 37, 38, 39, 40. — Ces Tortues ont reçu, suivant leur poids, des doses de conidies variant de 0,001 à 0,025, dans une veine des pattes antérieures. On incise la peau très prudemment sur le bord externe de la patte, car les ramifications des veines sont très courtes et immédiatement sous la peau. De plus, il faut se servir d'une aiguille très aiguë pour pousser l'injection, les parois des vaisseaux étant très-minces et peu résistantes. La mort survient une dizaine de jours après. Le foie présente des foyers hémorragiques dans lesquels on trouve des conidies ; les résultats manquent de netteté, mais sont assez comparables à ceux que nous avons observés chez le Pigeon de la 20me à la 37me heure.

Ces expériences faites à 10°-25° ne nous ayant rien donné, nous avons effectué une autre série d'expériences suivant le même mode opératoire, mais en mettant nos sujets à 40°.

Exp. 41, 42. — Ces animaux, ayant reçu 0 gr. 02 et 0 gr. 05 de conidies, sont placés à l'étuve à 40°. La mort survient le 2me jour. Le foie présente des foyers d'infection très étendus, surtout à la face inférieure et au voisinage du hile. La terminaison rapide de l'expérience ne permet pas la constitution de tubercules. Nous devons ajouter que les Tortues vivent fort bien à la température de 40°, leur activité physique présente alors son maximum. Elles subissent pourtant une certaine déperdition en eau que l'on peut compenser facilement. A 41° la situation est moins brillante et à 45° la mort survient ; un accident dans la régulation nous l'a fortuitement montré.

Nous avons essayé d'introduire l'émulsion de conidies par la glotte ; l'opération est praticable sur des sujets dont le poids ne dépasse pas 300 grammes ; au-dessus de ce poids, si l'on opère seul, elle devient impossible. En effet nous saisissons notre animal par la tête, nous attendons la résolution musculaire, nous écartons ensuite les mâchoires que nous maintenons avec un doigt, et profitant d'une inspiration, nous injectons immédiatement l'émulsion de conidies. Naturellement l'opération est d'autant plus longue et plus dangereuse que les Tortues sont de plus forte taille. Mais le principal inconvénient est que la trachée se bifurque à 4 ou 5^{mm}

de la glotte, de telle sorte que les conidies vont dans un seul poumon : elles n'atteignent même pas toutes les loges et la plus grande partie est immédiatement expulsée par l'animal.

Exp. 43, 44, 45, 46. — Ces Tortues, placées à 10°-25°, sont mortes respectivement 31, 29, 30 et 28 jours après le début de l'expérience ; elles ont reçu, tous les 2 ou 3 jours, des conidies par la glotte. A l'autopsie, les n°s 44 et 46 n'ont absolument rien présenté d'anormal. Les n°s 43 et 45 ont leurs parois pulmonaires couvertes d'un enduit brun constitué par des leucocytes ayant englobé des conidies. Il n'y a pas trace de mycélium.

L'introduction de l'émulsion nous laissant toujours dans l'incertitude des loges pulmonaires atteintes, nous nous sommes décidé à trépaner la carapace vis-à-vis d'une loge pulmonaire, pour introduire directement les conidies dans le poumon. Ce dernier se compose d'un certain nombre de loges : 6, 7, 8, placées immédiatement sous le bouclier de l'animal. Leur plus grande dimension est perpendiculaire à la carapace ; leur volume varie d'avant en arrière, passe par un maximum et diminue ensuite. Pour éviter de tomber dans la cloison de séparation, il est prudent de trépaner vis-à-vis d'une séparation de deux écailles marginales et sur le milieu des grandes plaques latérales. Dans nos premières expériences, nous pratiquions l'opération plutôt à la partie antérieure de l'animal, mais à tort : en effet, le sujet se débarrasse immédiatement de la plus grande partie de l'injection, par conséquent les loges postérieures peuvent ne pas recevoir de conidies.

Exp. 47, 48. — Ces deux animaux ont reçu l'émulsion directement dans le poumon. Placés tous les deux à 10°-25°, le n° 47 est mort au bout de 6 jours, présentant une inflammation diffuse des alvéoles pulmonaires. Le n° 48, tué au bout de 22 jours, ne présente absolument rien d'anormal.

Exp. 49, 50, 51, 52. — Les sujets de ces expériences placés, à l'étuve à 40°, sont morts à la suite de l'élévation de la température à 45°.

Exp. 53. — Cet animal, trépané et placé à 40°, est tué le 11e jour. Nous nous apercevons que des deux côtés l'injection est restée entre le sac fibreux qui enveloppe le poumon et la carapace. Les conidies ont germé, une couche de mycélium tapisse la poche formée par le décollement.

Exp. 54. — Traité comme le 53. La mort survient le 9e jour. A l'autopsie, nous ne constatons absolument rien d'anormal.

Exp. 55, 56. — Même mode opératoire que pour le 53. Ces animaux sont tués respectivement 17 et 15 jours après. On trouve dans les loges antérieures des placards blancs s'inscrivant exactement dans quelques alvéoles pulmonaires. L'examen microscopique montre que ces placards sont constitués par un mince feutrage de mycélium. Il n'y a pas de fructification.

Exp. 57, 58. — Même traitement que pour le nº 53. Les sujets meurent 6 et 4 jours après. Comme pour les nos 55 et 56, nous trouvons des plaques de mycélium occupant le fond de quelques alvéoles des loges antérieures. Egalement comme pour les nos 55 et 56, la plaque de mycélium enlevée découvre une paroi pulmonaire absolument semblable aux parties saines. Il n'y a ni exsudat ni vascularisation.

Exp. 59. — Même traitement que pour le nº 53. Le sujet meurt 7 jours après. Dans le poumon gauche, la troisième loge, aux parois épaisses de 2 à 3mm, ne présente plus qu'une cavité très réduite ; pourtant la communication avec la bronche persiste : ce qui en subsiste est occupé par un exsudat de consistance solide et élastique, d'une épaisseur de 1 à 2mm et de couleur jaune sale. Sur la face interne de cette coque on voit un feutrage de mycélium très dense avec des filaments fertiles dressés portant des conidies. C'est une colonie d'*A. fumigatus*.

Du même côté, dans la loge antérieure, les résultats sont encore plus nets. Sur la paroi antérieure s'est développée une colonie d'*Aspergillus* de forme ronde, large de 20mm. La couleur, blanche sur les bords, est verte au centre, témoignant immédiatement de la présence d'abondantes fructifications. Le tissu pulmonaire réagit violemment, il forme un bourrelet hypertrophique qui enchâsse la colonie d'*Aspergillus* dans une sorte de cuvette surélevée sur le fond du poumon. De plus, la loge contient une notable quantité d'un pus liquide de couleur brune.

Couleuvre. — Nous ne parlerons que pour mémoire de nos expériences sur les Couleuvres. Choisis à cause de leur poumon, qui forme une loge unique occupant près de la moitié de la longueur du corps, ces Reptiles ne nous ont donné que des résultats négatifs.

Exp. 60 et 61. — Par la glotte très difficilement perméable, nous injectons plusieurs jours de suite des conidies à l'état d'émulsion. Régulièrement l'animal exprime aussitôt son poumon et en chasse tout le contenu. Le n° 60 meurt le 10me jour, sans montrer absolument rien d'anormal ; même les cultures faites avec les frottis des parois pulmonaires sont demeurées négatives.

Le n° 61 meurt le 30me jour, après avoir reçu dans le poumon à travers la paroi du corps, à quatre reprises différentes, 0 gr. 01 de conidies. A l'autopsie, le poumon est le siège d'une violente inflammation : le microscope montre des conidies, des leucocytes, des globules rouges ; le sang prélevé dans le cœur contient des conidies. Il est difficile d'en tirer une conclusion étant donné que nous n'avons pas la certitude absolue de la voie suivie par les conidies qui peuvent fort bien être tombées dans la cavité générale.

Exp. 62. — La Couleuvre ayant reçu des conidies dans le poumon, par la glotte, puis à travers la paroi du corps et n'ayant pas paru influencée au bout de 30 jours, est mise à l'étuve à 40°. Mais un accident interrompt l'expérience.

En résumé, résultats complètement négatifs avec les Couleuvres.

Grenouille. — Les résultats obtenus sur les Tortues nous ont conduit à tenter les mêmes expériences sur les Grenouilles. Ces dernières vivent bien jusqu'à 32°, à condition de changer l'eau tous les jours et de les remettre 2 ou 3 heures à la température du laboratoire.

Exp. 63. — Quatre Grenouilles reçoivent quotidiennement par la trachée 0 gr. 01 de conidies. Placées à 10°-25°, elles meurent respectivement 11, 12, 13 et 14 jours après le début de l'expérience, sans présenter rien d'anormal dans leur poumon. Les cultures faites avec différents organes sont toutes positives.

Exp. 64. — Deux Grenouilles reçoivent 0 gr. 01 de conidies dans le péritoine. La mort arrive le 14me jour ; il n'y a pas de réaction apparente. Les cultures montrent la dissémination des conidies dans tout l'organisme.

Exp. 65. — Deux Grenouilles reçoivent par la voie intraveineuse 0 gr. 0005 de conidies dans 1 cc. d'eau. Elles meurent respectivement 21 et 34 jours après. La dissection la plus minutieuse ne montre absolument rien d'anormal.

Exp. 66. — Six Grenouilles reçoivent respectivement 0 gr. 01,

0.005, 0.004, 0.003, 0.002, 0.01 de conidies dans un centimètre cube d'eau par la voie intraveineuse. Elles meurent d'autant plus vite que la quantité de conidies a été plus forte, 1, 2, 4 et 14 jours après. L'autopsie ne présente rien de remarquable, sauf chez celles qui ont reçu une dose de 0.002 et où l'on voit deux ou trois infarctus du foie.

Exp. 67. — Reçoit par la voie intraveineuse à 32°, 0 gr. 001 de conidies dans 1 cc. Nous tuons le sujet le 8me jour. Résultat absolument négatif.

Exp. 68. — Deux Grenouilles reçoivent dans les veines 0 gr. 001 de conidies; elles meurent le 2me jour. L'une présente des infarctus du foie, l'autre absolument rien.

Exp. 69. — Deux Grenouilles reçoivent dans le poumon à travers la paroi du corps 0,001 de conidies. Elles meurent le 2me jour, sans rien présenter d'intéressant à l'autopsie.

Exp. 70. — Deux Grenouilles reçoivent dans le péritoine 0,01 et 0,025 de conidies. Elles meurent le 3me jour, sans présenter aucune lésion.

En résumé, les résultats sont tout à fait incertains.

Œufs en incubation. — Nous avons répété les expériences de Lucet. Notre *A. fumigatus*, introduit dans le vitellus et dans l'albumine, a germé, donnant du mycélium qui a gagné peu à peu la chambre à air. Là il a fourni des filaments fertiles. La couleur de cette culture était identique à celle des cultures sur gélose. Ce résultat n'est pas surprenant, étant donné la teneur en glycogène très considérable que présente l'œuf d'Oiseau.

D'autre part, nous n'avons jamais constaté la pénétration du mycélium à travers une coquille intacte, malgré les nombreuses tentatives auxquelles nous nous sommes livré. Même des œufs fracturés n'ont pas toujours donné asile au parasite. Nous signalerons de plus qu'à l'occasion d'autres recherches, nous avons mis en incubation près de 900 œufs, qui étaient, il est vrai, très soigneusement choisis, lavés et déposés sur du sable, mais jamais nous n'avons eu d'infection.

Conclusions sur le rôle pathogène de notre *Aspergillus fumigatus*.

Chez le Cobaye. — Dans les veines, les conidies sont la cause

d'embolies multiples, principalement dans les reins et le foie; ces embolies sont suivies d'abcès qui, si l'animal survit, guérissent par sclérose. Dans les poumons et le péritoine, les conidies amènent une violente inflammation, mais celle-ci n'a qu'un rôle secondaire; si violente qu'elle soit, la guérison peut survenir. Nous n'avons pas observé le développement du mycélium. La mort, quand elle se produit, paraît amenée par la destruction partielle d'organes importants, comme les reins, le foie et les poumons.

Chez le Pigeon. — Dans les veines, une quantité infime de conidies ($0^{gr}\cdot00001$) entraine la mort en 48 heures. Dans le péritoine, la mort un peu moins rapide est pourtant certaine. Dans les organes respiratoires, si les conidies entrées par un point quelconque se disséminent et atteignent le poumon, la mort survient au bout de 72 heures au maximum. Dans ces diverses conditions, nous n'avons pas observé le développement du mycélium : la mort nous paraît due à l'intensité de l'inflammation et à la destruction d'une partie du foie, quand les conidies pénètrent par la voie veineuse.

Dans les sacs aériens, si l'on emploie des quantités impondérables de conidies et si la dispersion de ces dernières ne se fait pas, on peut obtenir la réalisation d'une lésion en tout identique à la lésion observée spontanément : constitution d'un thalle. Dans ce cas, deux alternatives se présentent : ou bien le thalle végète lentement, l'animal isole son thalle et survit ; ou le thalle se développe rapidement, gagne les voies bronchiques et l'animal meurt d'asphyxie.

Chez la Tortue. — A la température de 10-25°, quelle que soit la voie employée, veines ou poumons, la mort, quand elle survient, est le résultat d'une inflammation diffuse sans développement de mycélium. A la température de 38 à 42°, avec injection de conidies dans les veines, les résultats paraissent identiques à ceux obtenus à 10-25° ; pourtant les infarctus du foie sont plus nets. Dans le poumon, on obtient une lésion absolument identique à celle observée à l'état spontané chez les Oiseaux.

Chez la Couleuvre et la Grenouille. — Nos expériences nous ont donné des résultats trop inconstants pour que nous puissions en tirer des conclusions de quelque valeur.

Nous venons de voir que les conidies d'*A. fumigatus* traduisaient leur action de deux façons totalement différentes. Ou bien, introduites dans un sac aérien d'Oiseau en très petite quantité, ces conidies germent et donnent un thalle dont le développement n'entraîne pas fatalement la mort. Ou bien, introduites en grande quantité dans un organisme, elles deviennent le centre d'une inflammation très intense dans les sacs aériens, les reins, le foie, le poumon et causent une mort très rapide. Il y a lieu de se demander maintenant à quoi est due leur action.

Agissent-elles comme un corps solide déterminant un traumatisme local des tissus? Agissent-elles par une toxine? Pour essayer de résoudre la question, nous nous sommes livré à une autre série d'expériences : 1° avec des conidies ayant perdu la faculté de germer : chez le Cobaye et le Pigeon, dans les veines et dans l'appareil pulmonaire : 2° avec de l'émeri, du lycopode, du verre, des grains de maïs et de l'ammoniaque dans les sacs aériens du Pigeon.

Conidies d'*A. fumigatus* ayant perdu la faculté de germer.

Il peut paraître oiseux à première vue de se livrer à des expériences avec des conidies stériles. Il est évident que si l'on attribue la mort des animaux au développement du mycélium qui traumatise les tissus et les nécrose, il est tout à fait inutile d'expérimenter avec des conidies qui ne peuvent plus donner de mycélium. Aussi les expériences sont-elles assez rares, nous n'en avons trouvé de relation que dans Rénon.

Cet habile expérimentateur, appliquant régulièrement à l'Aspergillose le programme complet de recherches sur les microbes, a cherché à réaliser une immunité chez ses sujets d'expériences. Les expériences sont au nombre de 9 : 7 Lapins et 2 Cobayes. Il a établi l'innocuité des conidies chauffées à 110°, les animaux ne présentant alors aucun trouble de l'état général. Puis il a traité une série de Lapins par des doses égales de conidies stérilisées, à 57°,5, 60°, 82°, 100° et 110°. Les animaux, n'ayant pas maigri, ont reçu une forte dose de conidies vivantes. Résultat paradoxal, ils sont morts d'autant plus vite que la stérilisation s'était faite à plus haute température. Deux autres Lapins et deux Cobayes, traités de

la même façon, sont morts et même plus rapidement que les témoins n'ayant reçu simplement que des conidies vivantes.

Désirant répéter ces expériences, nous avons pourtant introduit dans la technique une modification qui nous paraît très-importante. Nous nous sommes servi de conidies ayant subi un chauffage à sec ininterrompu de 5 heures, à 100°. En effet, nous désirions tuer nos conidies, mais ne pas les modifier en tant que corps solides. A 110°-115° la cellulose est altérée, à 100° il y a perte d'eau, la balance accuse une différence sensible. De plus, la couleur est nettement modifiée, elle est plus foncée ; à l'examen microscopique il n'y a plus de chapelets de conidies ; l'émulsion préparée comme pour les conidies vivantes est moins stable.

Cobaye. — Exp. 71. — L'animal reçoit dans la veine jugulaire 0 gr. 01 de conidies stériles. Il présente de la diarrhée et une forte dyspnée, puis se rétablit progressivement après avoir perdu 82 gr. sur 620. Le 22me jour, ayant regagné son poids primitif, il est sacrifié. Il présente des zones indurées du poumon gauche et une grosse cicatrice du rein gauche.

Exp. 72. — Ce Cobaye reçoit dans la veine jugulaire 0 gr. 02 de conidies mortes. Il meurt le 2me jour, ayant perdu 80 gr. sur 680. A l'autopsie, il présente des infarctus pulmonaires, principalement à droite.

Exp. 73. — Cet animal reçoit 0 gr. 01 de conidies mortes dans la veine jugulaire ; il meurt le 9me jour après avoir perdu 260 gr. sur 625. Les lésions sont générales : tubercules confluents du poumon, du foie, des reins. La rate surtout est criblée de granulations miliaires, ses dimensions ont doublé.

Exp. 74. — Nous introduisons 0 gr. 005 de conidies mortes dans la veine jugulaire. Le 9me jour, cette femelle pleine met bas prématurément et meurt 4 heures après. A l'autopsie, on remarque un œdème étendu de la paroi abdominale. Il s'est produit une hémorragie péritonéale de 5 à 6 gr. environ. La source de cette hémorragie est dans un abcès de la face supérieure du foie. De plus on remarque 5 ou 6 autres tubercules.

Exp. 75. — Ce sujet reçoit 0 gr. 005 de conidies mortes dans le péritoine. En 3 jours il perd 11 gr. sur 200 ; le 8me jour, le poids primitif étant récupéré, nous introduisons une dose de 0 gr. 025. Aucune influence sur le poids. Nous sacrifions l'animal 13 jours après le

début de l'expérience. A l'autopsie, pas trace d'inflammation. Les conidies sont dans les lymphatiques qui dessinent un énorme cordon passant dans l'épaisseur du grand épiploon et aboutissant à la rate.

Exp. 76. — Nous introduisons 0 gr. 01 de conidies mortes sous la peau. L'animal meurt le 3me jour, ayant perdu 31 gr. sur 208. Nous trouvons une énorme boule d'œdème, quoique la quantité de liquide injecté ne fut que de 2 cc. Pas de suppuration.

Exp. 77. — Ce sujet reçoit sous la peau 0 gr. 02 ; le 4me jour, il a perdu 41 gr. sur 235 ; il se forme un abcès qui s'ouvre au dehors. L'animal se rétablit et récupère son poids primitif ; nous injectons alors 0 gr. 025 dans un muscle. L'état général ne se modifiant pas, nous sacrifions l'animal le 11me jour après le début de l'expérience. Pas trace de suppuration dans le muscle.

Pigeon. — Exp. 78. — Ce sujet reçoit dans la veine axillaire 0 gr. 01 de conidies stériles. Son poids ne variant pas, le 22me jour nous recommençons l'expérience dans les mêmes conditions. Le 34me jour, nous sacrifions l'animal *in extremis* ; depuis deux jours, il a de la diarrhée. La perte de poids est à peine sensible : 48 gr. sur 380. A l'autopsie, le foie présente des granulations miliaires confluentes, sa teinte est verte et son poids est de 9 gr. au lieu de 5 à 6 gr.

Exp. 79. — Nous introduisons 0 gr. 01 de conidies mortes dans la veine axillaire. L'état général ne subit aucune variation. L'animal est sacrifié 21 jours après. A l'autopsie, le foie présente des granulations miliaires, peu nombreuses, il est vrai.

Exp. 80, 81. — Ces deux animaux ont reçu par insufflation des quantités considérables de conidies mortes sans en être aucunement incommodés. Ensuite nous injectons en B et B' 0 gr. 01 de conidies en émulsion. L'état général ne variant pas, nous sacrifions les deux sujets le 29me jour après le début de l'expérience. Le poumon ne présente aucune trace d'inflammation. Les sacs B et B' ont leurs parois accolées, les cavités ont totalement disparu.

En résumé, chez le Pigeon et le Cobaye, les conidies privées de la faculté de germer sont également dépourvues de la faculté de causer une inflammation. Mais comme les conidies vivantes, injectées dans les veines, elles déterminent des embolies qui peuvent entraîner la mort ou de la nécrose très étendue. Pourtant, la disparition de la cavité des sacs témoigne d'une action réelle,

Est-elle particulière aux conidies? C'est ce que la seconde partie des expériences va nous indiquer.

Exp. 82. — Nous introduisons en C deux billes de verre de $0^{cm}5$ de diamètre. Il ne se produit pas de fistule. Nous sacrifions l'animal 29 jours après. La cavité du sac est réduite à un mince cordon creux présentant à l'extrémité où sont les billes une dilatation ampullaire. La paroi est épaisse de $0^{cm}1$ à $0^{cm}2$, vascularisée, mais il n'y a pas trace de suppuration.

Exp. 83. — Nous introduisons en C, cinq grains de maïs. Il ne se produit pas de fistule. L'animal est sacrifié 29 jours après. Les parois du sac se sont rétractées, elles enserrent étroitement les cinq grains de maïs. La communication avec la bronche persiste. Il n'y a pas de suppuration. Les grains de maïs n'ont subi aucune altération, ils ont légèrement augmenté de volume.

Exp. 84. — Ce Pigeon a reçu pendant deux mois des quantités colossales d'émeri n° 20 dans la trachée, dans les sacs, dans le péritoine : la dose s'élevait à 0^{gr}.05 tous les deux jours. Il n'en a été aucunement incommodé. Sacrifié le 60e jour, l'autopsie nous a montré simplement les lymphatiques courant sur la face gauche du gésier bourrés d'émeri. Le poumon ne présente rien d'anormal.

Exp. 85. — Cet animal reçoit 0 gr. 001 d'émeri n° 20 dans la veine axillaire. Comme on peut s'y attendre, la mort s'est produite par asphyxie au bout d'un quart d'heure. En effet, l'émeri n° 20, examiné au microscope, montre des particules irrégulières dont les dimensions varient de 1 μ à 15 μ, présentant dans leurs formes la plus grande variété et hérissés d'aspérités.

Exp. 86. — Ce Pigeon reçoit dans la trachée des quantités considérables de lycopode. De temps en temps après une insufflation, il présente un peu de toux. Les accidents se bornent là. De plus, nous introduisons du lycopode, sous forme d'émulsion, dans les sacs et dans le péritoine. L'animal manifeste une légère dyspnée dans les derniers jours ; nous le sacrifions 36 jours après le début de l'expérience. A l'autopsie, le poumon gauche est totalement hépatisé ; le droit présente deux ou trois foyers d'hépatisation. Les sacs ayant reçu le lycopode sont dépolis et présentent des nodules de tissu scléreux de 1 à 2^{mm} de diamètre, contenant des spores de Lycopode inaltérées. De plus, les parois des sacs sont réunies par des tractus assez nombreux.

Exp. 87. — Le sujet reçoit dans la veine axillaire une émulsion de 0 gr. 0002 de spores de Lycopode dans 2 cc. d'eau. La mort est instantanée. Nous n'avons répété cette expérience que pour sacrifier nos animaux. En effet, les spores de Lycopode, tétraédriques, hérissées d'aspérités, mesurant 25 μ dans leurs principaux diamètres, ne peuvent pas franchir les capillaires et entraînent la formation d'embolies.

Ces expériences nous montrent que les sacs aériens recevant des corps étrangers de grosse dimension réagissent d'une façon particulière ; ils séquestrent immédiatement le corps et présentent une inflammation tout-à-fait modérée. Si les corps étrangers sont assez nombreux et assez petits, il y a également séquestration accompagnée d'une inflammation importante surtout par la multiplicité des foyers, mais quelle que soit son étendue, elle n'amène pas la mort du sujet.

Exp. 88. — Nous faisons faire à ce Pigeon 3 ou 4 inspirations d'air ayant barboté dans une solution ainsi composée :

Ammoniaque liquide	10cc
Eau	90cc

Le sujet présente immédiatement les signes d'un œdème intense du poumon. Les jours suivants, manifestation d'un catarrhe très violent ; la mort se produit le 14me jour. A l'autopsie, tous les sacs aériens sont couverts de placards blancs, constitués par des leucocytes. Les cultures nous montrent l'absence d'*Aspergillus*, vérification qu'il était indispensable de faire tellement la ressemblance des lésions était grande.

L'idée de cette expérience nous vient de Lucet. Cet auteur, pour préparer la voie à l'infection aspergillaire, avait fait respirer des vapeurs irritantes à ses sujets ; mais nous voyons que l'inspiration de telles vapeurs suffit à elle seule pour entraîner la mort.

Il y a donc dans les conidies d'*A. fumigatus* deux causes nocives : un corps solide qui exerce un traumatisme local et dans ce corps un poison. Nous avons essayé d'isoler ce poison après bien d'autres auteurs, mais nous avons complètement échoué. Aussi bien dans les liquides résiduels de culture que dans le mycélium il a constamment échappé aux recherches. D'après nos expériences il réside uniquement dans les conidies. Il paraît être détruit par le chauffage nécessaire pour tuer le pouvoir germinatif. Les conidies,

extraordinairement adaptées pour la résistance à divers agents et à la dissémination de l'espèce, n'ont pas cédé leur poison.

Nous ne citons nos expériences que pour mémoire.

Exp. 89. — Nous avons fait macérer 0 gr. 025 de conidies à 40°, pendant 48 heures dans 10 cc. d'un sérum artificiel contenant tous les éléments minéraux du sérum ainsi que 1.50 °/₀ de glycose. Nous filtrons sur bougie et nous injectons dans la veine axillaire d'un Pigeon qui ne présente aucune réaction. La température, prise trois fois par jour, n'a aucune variation notable. L'animal, sacrifié 14 jours après, ne présente rien de particulier.

Exp. 90, 91, 92. — Nous faisons macérer 0 gr. 25 de conidies dans 25 cc. du liquide employé précédemment et cela pendant six jours à 40°. Nous filtrons sur bougie et nous obtenons 13 cc. de liquide. Chacun des sujets reçoit respectivement 3 cc., 4 cc. et 5 cc. du liquide. Aucune réaction. Nous les sacrifions quatre jours après et ne trouvons absolument rien à l'autopsie. La température prise comme pour l'expérience 89, n'avait subi aucune variation notable.

Nos expériences ont donc eu un résultat absolument négatif en ce qui concerne la recherche et l'isolement de la toxine de l'*A. fumigatus*.

Aspergillus glaucus

Pendant quatre mois, nous nous étions livré à des expériences variées avec notre *Aspergillus fumigatus* sans avoir aucune infection dans nos cultures, quand brusquement, à la fin de nos expériences nous avons vu apparaître deux *Aspergillus* nouveaux dont nous avons donné les caractéristiques. Nous leur avons donc immédiatement appliqué notre programme.

Exp. 93, 94. — Deux Cobayes reçoivent dans la veine jugulaire une émulsion de 0 gr. 0075. Ils meurent à la fin du deuxième jour, présentant des infarctus du poumon et des foyers hémorragiques du foie.

Exp. 95. — Un Pigeon reçoit une émulsion de 0 gr. 001 de conidies dans 1 cc. d'eau. Il meurt cinq minutes après : le poumon est absolument décoloré.

Exp. 96, 97. — Deux Pigeons reçoivent respectivement 0 gr. 0002 et 0 gr. 005 de conidies. Ils meurent le deuxième jour. A l'autopsie,

ils présentent des infarctus du foie. Rien de notable dans le poumon

De plus, nous leur avions tranché l'insertion humérale du grand pectoral d'un seul côté, pour voir si l'immobilité des faisceaux musculaires favoriserait la formation d'embolies dans ce muscle. A l'examen, on trouve une infiltration séreuse de tous ces faisceaux immobiles ; parallèlement aux fibres on voit des traînées légèrement blanchâtres. L'examen nous montre des leucocytes englobant des conidies. La terminaison trop rapide de l'expérience nous interdit d'en tirer une conclusion absolument ferme, mais il nous semble qu'il y a là une indication donnant la raison probable de la localisation des lésions aspergillaires dans le foie et les reins. L'immobilité de ces organes favorise la stase des conidies dans leurs capillaires.

Exp. 98. — Nous introduisons en B une émulsion de 0 gr. 005 de conidies. Le sujet présente, le troisième jour et les suivants, un violent catarrhe bronchique, mais son état général ne se modifiant pas, nous le sacrifions neuf jours après. La paroi externe de B est recouverte par un thalle sans fructifications.

Exp. 99. — Nous trépanons la carapace d'une Tortue et nous injectons 0,0025 de conidies dans la quatrième loge pulmonaire de chaque côté. Le sujet, placé à 40°, meurt le deuxième jour, présentant une inflammation diffuse étendue à tout le poumon.

Exp. 100. — Une Tortue, traitée comme le n° 99, reçoit 0 gr. 005 de conidies tous les deux jours. Elle est placée à 40°. La mort survient le quatrième jour. A l'autopsie, le poumon entier est le siège d'une inflammation diffuse.

L'*Aspergillus glaucus* se conduit donc comme l'*A. fumigatus*. Les conidies causent cependant une réaction inflammatoire bien moindre.

Comme pour l'*A. fumigatus* nous nous sommes livré encore à des expériences sur les œufs en incubation. Des conidies, introduites dans le sein du vitellus ou dans la chambre à air, ont donné lieu, après 48 heures à l'étuve, à une végétation et un développement de conidies caractéristiques de l'*A. glaucus*. Nous n'avons pas observé la pénétration du mycélium à travers une coquille intacte.

Aspergillus niger.

Exp. 101. — Un Cobaye reçoit dans la veine jugulaire 0.001 de conidies ; il meurt le deuxième jour. A l'autopsie, il présente des infarctus du foie, mais rien d'apparent encore dans les reins. Cet animal a présenté une paralysie de la patte antérieure droite. Une dissection attentive montre une embolie de l'artère du grand pectoral. On a peut-être ici une explication des paralysies qui atteignent fréquemment les sujets soumis à l'Aspergillose expérimentale. Rénon en particulier (p. 81) dit avoir eu 8 Lapins paralytiques sur 140 mis en expérience; les paralysies attribuées à des lésions de la moelle avaient fait le sujet de très longues recherches.

Exp. 102. — Un Pigeon reçoit dans la veine axillaire 0 gr. 001 de conidies. Il meurt le troisième jour, présentant des tubercules commençants du foie.

Exp. 103. — Un Pigeon reçoit 0 gr. 002 de conidies dans la veine axillaire. Sacrifié le sixième jour *in extremis*, il présente des tubercules typiques du foie, sans réaction inflammatoire.

Exp. 104. — Un Pigeon reçoit à l'aide d'une seringue de Pravaz 0 gr. 001 de conidies dans les sacs A et C. Il meurt le troisième jour. A l'autopsie, nous trouvons en C une magnifique colonie d'*A. niger* de 1 cm. de diamètre. En A, les parois sont entièrement recouvertes de colonies aspergillaires, qui se touchent presque.

Une telle dose de conidies d'*A. fumigatus* emportait régulièrement nos animaux en un ou deux jours, bien avant le développement du mycélium. Cela ne peut s'expliquer que par un pouvoir irritant bien moindre des conidies d'*A. niger*.

Exp. 105. — Nous incisons C et nous introduisons quelques très rares conidies au moyen d'une palette. Le sujet est sacrifié le cinquième jour. Il présente, sur la paroi interne de C, un thalle parasite. Une culture nous montre que c'est bien de l'*A. niger*.

Exp. 106. — Une Tortue reçoit tous les deux jours, dans la quatrième loge de chaque côté, 0.005 de conidies. Elle est placée à l'étuve à 40° et meurt le huitième jour. Les loges infestées sont le siège d'une inflammation très intense, la cavité est réduite et les parois très épaissies. La quatrième loge gauche renferme une nappe de mycélium large de 12^{mm}.

L'*A. niger* a donc une action semblable à celle de l'*A. fumigatus* mais avec une réaction inflammatoire beaucoup moindre.

Comme pour l'*A. fumigatus* et l'*A. glaucus*, nous avons expérimenté l'*A. niger* dans les œufs en incubation. Comme pour les deux premiers, nous n'avons pas obtenu la pénétration du mycélium à travers la coquille intacte. Dans tous nos essais (10 œufs), l'introduction des conidies a causé une fermentation putride du blanc et du jaune.

Levure blanche trouvée dans les poumons de deux *Testudo græca*.

Exp. 107. — Une Tortue reçoit par trépanation dans le poumon droit et le poumon gauche un fragment notable de Levure prélevée directement dans le poumon d'une Tortue infectée. Le sujet meurt 21 jours après, sans présenter la moindre trace d'un développement de la Levure. La culture est négative.

Exp. 108. — Une Tortue reçoit par trépanation dans le poumon droit et le poumon gauche une quantité notable de la Levure provenant d'une culture sur pomme de terre. La mort survient le huitième jour. A l'autopsie, une inflammation diffuse des deux poumons; il est impossible de voir le développement de la culture. La culture de vérification n'a rien donné.

Nos essais pour transmettre à des sujets neufs le parasite trouvé dans les poumons de deux Tortues ont donc échoué.

CONCLUSIONS

Au point de vue des Mycoses en général :

Le poumon des Tortues terrestres peut donner asile et permettre un notable développement à un Champignon du genre Levure. Les essais pour transmettre le parasite à d'autres sujets ont été négatifs.

Au point de vue de l'Aspergillose en particulier :

1° Expérimentalement comme à l'état spontané, l'Aspergillose se manifeste de deux façons absolument distinctes :

a) Parasitisme dans une cavité naturelle ou pathologique ;

b) Septicémie due aux conidies.

2° Il n'y a aucun rapport à établir entre ces deux maladies. La première est due au développement du thalle; la seconde à la création, autour des conidies, de foyers inflammatoires très intenses.

3° L'*Aspergillus glaucus*, l'*A. niger* et l'*A. fumigatus* peuvent développer un thalle parasite chez les Oiseaux. Leurs conidies, introduites dans le sang, déterminent une réaction inflammatoire moins intense, mais causent néanmoins une mort rapide.

4° Il ne paraît pas y avoir d'animaux à sang chaud spécifiquement réfractaires à l'Aspergillose parasitaire ou septicémique et même la *Testudo græca*, placée dans des conditions de température convenables, contracte les deux formes de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

1749. DE RÉAUMUR, *Art de faire éclore et d'élever en toutes saisons les Oiseaux domestiques de toutes espèces*, I, p. 231.

1815. MAYER (A.-C.), Verschimmelung im lebenden Körper. *Archiv für Anatomie und Physiologie*, I, p. 310.

1816. JÄGER, Ueber Entstehung von Schimmel in Innern des thierischen Körpers. *Archiv für Anat. und Physiologie.*

1824. MÄRKLIN, *Betrachtungen über die Urformen niederer Organismen*, p. 73.

1826. HEUSINGER, *Bericht v. d. königl. zootom. Anstalt, zu Würzburg.*

1827. THEILE, *Heusinger's Zeitschrift f. d. organ. Physik.*

1833. OWEN (R.), *Philosophical Magazine.*

1841. DESLONGCHAMPS, Note sur les mœurs du Canard eider et sur les Moisissures développées pendant la vie à la surface interne des poches aériennes d'un de ces animaux. *Ann. des sc. nat.*, p. 371.

1841. ROUSSEAU et SERRURIER, *Comptes rendus Acad. des sciences*, XIII, p. 18.

1842. MONTAGNE et RAYER, *Société philomathique de Paris*, 9 juillet.

1842. RAYER, Sur une Mucédinée qui se développe quelquefois sur les œufs de Poule conservés pour les usages domestiques. *Arch. de médecine comparée*, n° 1, p. 59.

1842. RAYER, *Journal de l'Institut.*

1842. BENNETT, *Transact. of the Royal Society of Edinburgh*, XV, p. 277.

1842. MÜLLER und RETZIUS, Ueber pilzartige Parasiten in den Lungen und Lufthöhlen der Vögel. *Müller's Archiv f. Anat. u. Physiol.*

1842. HANNOVER, *Müller's Archiv*, p. 281.

1842. REINHARDT, *In* Hannover.

1845. REMAK, Diagnostische und pathogenische Untersuchungen, p. 244.

1848. SPRING, Sur une Mucédinée développée dans la poche aérienne

[illegible] revue des sciences de [illegible]

[illegible] Verhandlungen der [illegible] p. [illegible]

[illegible] p. [illegible]

[illegible] p. [illegible]

[illegible] des eigenen Menschen [illegible]

[illegible] Beiträge zur Lehre von den beim Menschen vorkommenden [illegible]

[illegible] Pneumonomycosis aspergillina. [illegible]

[illegible]

[illegible] Beiträge zur [illegible]

[illegible] Sc. [illegible]

[illegible] Zwei Fälle von [illegible]mykosis der Lungen. [illegible] Archiv, [illegible]

[illegible] des Wiederkäuers. [illegible]

[illegible] Experimente über die Injection der Pilzsporen von [illegible] und P. [illegible] in das Blut und die serösen Säcke. [illegible]

[illegible] in den Geweben [illegible]

[illegible]

[illegible] Lazzari [illegible] V. p. 286.

[illegible] V. p. 286.

[illegible]

[illegible]

1875. Gayon. *Recherches sur les altérations spontanées des œufs.* Thèse de la Fac. des sc. de Paris.

1875. Pick. *Prenss. M* [illegible]

1876. Bonizzi. *In* Neumann.

1876. Fürbringer. Beobachtungen über Lungenmykosen beim Menschen. *Virchow's Archiv*, LXVI, p. 330.

1876. Zürn. Beiträge zur Lehre v. d. durch Pilze hervorgerufene Krankheiten der Hausthiere. *Berliner Archiv.*

1877. Grawitz. Beiträge zur systematischen Botanik der pflanzlichen Parasiten u. experimentellen Untersuchungen. *Virchow's Archiv*. LXX, S. 546.

1877. Rother. Ein Fall von geheilter Pneumomycosis aspergillina. *Charité Annalen*, IV, p. 272.

1878. Zimmermann, Ueber die Organismen welche die Verderbniss der Eier veranlassen. *Ber. der nat. Gesellsch. zu Chemnitz.*

1878. WEICHSELBAUM, Eine Beobachtung von Pneumomycosis aspergillina. *Wiener med. Wochensch. att.*, 49, p. 1289.

1878. BOLLINGER, Ueber mykotische Erkrankungen bei Vogeln. *Aerzt. Intelligenzblatt.*

1879. GENERALI, Micosi delle vie aere nei Colombi. *Il medico veterinario*, p. 272.

1880. HERTERICH, E. Fall von Mykosis tracheae. *Aerzt. Intelligenzblatt*, . 465.

1880. BOLLINGER, Ueber Pilzkrankheiten höherer und niederer Thiere. *Aerztliches Intelligenzblatt.*

1880. GRAWITZ, Ueber Schimmelvegetationen im thierischen Organismus. Experimentelle Untersuchung. *Virchow's Archiv*, LXXXI, p. 355.

1881. KITT, Mycosen der Luftwege bei Tauben. *Deut. Zeitschrift für Thier-medicin*, p. 110.

1881. GAFFKY, Experimentell erzeugte Septikämie mit Rücksicht und progressive Virulenz und accommodative Züchtung. *Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamt*, I, p. 126.

1881. GRAWITZ, Experimentelles zur Infectionsfrage. *Berl. klin. Wochenschrift.*, p. 189.

1881. RIVOLTA et DELPRADO, *L'Ornitojaria.*

1882. FALKENHEIM, Ein Fall von Aspergillus-Mykose der menschlichen Lunge. *Berl. klin. Wochenschrift*, 49, p. 754.

1882. BAUMGARTEN und MÜLLER, Versuche über accommodative Züchtung von Schimmelpilzen. *Berl. klin. Wochenschrift*, 32.

1882. LICHTHEIM, Ueber pathogene Schimmelpilz. I, Die Asp. mykosen. *Berl. klin. Wochenschrift*, p. 129.

1882. LEBER, Ueber die Wachsthumsbedingungen der Schimmelpilz im menschlichen und thierischen Körper. *Berl. klin. Wochenschrift*, 11, p. 161.

1882. ZÜRN, *Die Krankheiten der Hausgeflügels*, p. 130.

1882. KAUFMANN, Recherches sur l'infection produite par l'*A. glaucus*. *Lyon médical*, n° 4, p. 117.

1882. KAUFMANN, Nouvelles recherches sur l'ingestion des spores d'*A. fumigatus*. *Lyon médical*, n° 10.

1883. LICHTHEIM, Ueber pathogene Mucorinen u. die durch sie erzeugen Mykosen des Kaninchens. *Zeitschrift für klin. Med.*

1883. EIDAM, Cohn's *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, III, p. 392.

1883. DE BARY, *Morphologie und Physiologie der Pilze.*

1884. PERRONCITO, Aspergillose miliaire chez la Poule. *Il medico veterinario*, p. 105.

1884. LAULANIÉ, Sur quelques affections parasitaires du poumon et leur rapport avec la tuberculose. *Arch. de physiologie normale et path.*, p. 511.

1884. SCHÜTZ, Ueber das Eindringen von Pilzsporen in die Athmenwege und die dadurch bedingten Erkrankungen der Lunge, etc. *Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamt*, II, p. 208.

1884. RÖCKL. Ueber Pneumomykosen. *Deutsche Zeitschrift für Thierheilkunde*. X. p. 122.

1884. MARTIN. *Jahresb. d. k. Cent. Thierarzneischule in München*.

1885. DI VESTEA. Pneumomycosi da Aspergillo. *Il Morgagni*.

1885. FRAENKEL. Bakteriolog. Mitth. *Deut. med. Wochenschrift*. 31.

1885. SCHUBERT. Zur Casuistik der Aspergillusmykosen. *Deutsches Archiv für klin. Med.*. XXXVI. p. 162.

1886. OLSEN. Eine durch einem im Lister'schen Verbande gewucherten Pilz verursachte Hautkrankeit. *Norsk. Magazin for Laegevidenskaben*. 4.

1886. OLSEN und GADE. Undersogelser over *A. subfuscus* som patogen mugsop. *Nordisk med. Arkiv*.

1886. LINDT. Mittheilungen über einige neue pathogene Schimmelpilze. *Archiv für Path. und Pharm.*. XXI. p. 209.

1886. ZIEGENHORN. Versuche über die Abschwächung pathogener Schimmelpilze. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, XXI. p. 249.

1886. BOSTRÖM. Demonstration mikroskopischer Präparate von Schimmelpilzen. *Berl. klin. Wochenschrift*, 20. p. 229.

1886. PIANA. *R. Scuola sup. di med. veter. di Milano*.

1887. ZSCHOKKE. *Schweizer Arch. f. Thierheilkunde*. p. 172.

1887. POPOFF. *Ein Fall von Mycosis asp. broncho-pneumonica nebst einigen Bemerkungen über ähnliche Erkrankungen des Respirationswege*. Warschau.

1887. RIBBERT. *Der Untergang pathogener Schimmelpilze im Körper*. Bonn.

1887. BIZARD et POMMAY. *Rec. de méd. vét.*, p. 296.

1887. OSLER. *Aspergillus* from the Lung. *Trans. of the Path. Soc. of Philadelphia*. XII and XIII.

1887. RIVOLTA. Pneumomicosi aspergillina in un Fagiano. *Giornale di anat. e patol. degli animali*, p. 131.

1888. RIBBERT. Ueber wiederholte Infection mit pathogener Schimmelpilzen und über die Abschwächung derselben. *D. med. Wochensch*, 48.

1888. NIPPEN, *Beiträge zur Schutzimpfung*. Inaug. Diss., Bonn.

1888. HÜGEMEIER, *Ueber Abschwächung pathogener Schimmelpilzen*. Inaug. Diss., Bonn.

1888. HILDEBRANDT, *Exp. Untersuchungen über des Eindringen pathogener Microorganismen von den Luftwegen und der Lungen*. Inaug. Diss., Königsberg.

1888. COSTANTIN, *Les Mucédinées simples*.

1889. LINDT, Ueber einen neuen pathogenen Schimmelpilz aus den mensch. Gehörgang. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, XXV, p. 257.

1889. SIEBENMANN, Ein zweiter Fall von Schimmelmykose des Rachendaches. *Monatsch. f. Ohrenh.*, p. 65.

1889. OBRASZOW und PETROFF, Fall gleichzeitiger Actino und Schimmelmykose. *Russkaja medicina*.

1889. UHTHOFF, *Berliner klin. Wochensch.*, p. 39.

1889. TRUMPP, *Ueber saprophyte Schimmelpilze im Brutskrebs.* Inaug. Diss., München.

1890. FRANK, *Deutsche Zeitschrift für Thiermed. und vergl. Pathol.*, XVII, p. 291.

1890. HEIDER, Ueber das Verhalten der Ascosporen von *A. nidulans*, Eidam, in Thierkörper. *Centralb. f. Bakt. u. Parasit*, I, p. 553.

1890. BAUMGARTEN, *Lehrbuch der pathologischen Mykologie.*

1890. WHEATON, Case primarily of tubercule in which a *Fungus* (*Asp.*) grew in the bronchi and lung, simulating actinomycosis. *Transact. of the Pathol. Soc. of London*, XLI, p. 34.

1890. DIEULAFOY, CHANTEMESSE et WIDAL, Congrès de Berlin.

1891. DUBREUILH, Des Moisissures parasitaires de l'Homme et des animaux supérieurs. *Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, p. 428 et 516.

1891. POTAIN, Un cas de tuberculose asp. *L'Union médicale*, p. 449.

1891. LEBER, *Die Entstehung der Entzündung*, etc.

1891. VAN THIEGHEM, *Traité de botanique*, II, p. 1145.

1891. DELEPINE, A case of mechanomycosis of the skin, with remarks. *Pat. Soc. of London.*

1891. MAZZANTI, Pneumomicosi in un Agnello. *Il moderno Zoiatro*, p. 87.

1891. ROSS, Vorläufige Mitth. über einige Fälle v. Mycosis beim M. *Centralblatt für Bakteriol.*, IV, p. 504.

1891. ZARNIKO, Aspergillusmycose der Kieferhöhle. *Deutsche med. Wochenschrift*, p. 1222.

1891. CIAGLINSKI, Przyczynek do nauki o grzybnicach plesniowych. *Pamietnik Towarzystwa Lekarskiego Warszawskiego*, LXXXVI, p. 491 et LXXXVII, p. 447.

1892. NEUMANN, *Traité des maladies parasitaires non microbiennes des animaux domestiques*, p. 592.

1892. DARESTE, Rech. sur le développement des végétations cryptogamiques à l'intérieur et à l'extérieur de l'œuf de Poule. *C. R. Acad. des Sc.*

1892. BOYCE, Remarks upon a case of Asp. pneumonomycosis. *Journal of pathol. and bact.*, I, p. 165.

1893. RÉNON, *Rech. cliniques et exp. sur la pseudo-tuberculose aspergillaire.* Thèse de Paris.

1893. D'ARSONVAL et CHARRIN, Electricité et microbes. *Soc. de biologie*, 29 avril, 1er et 8 juillet.

1893. ARTAULT, *Recherches bactériologiques, mycologiques, zoologiques et médicales sur l'œuf de Poule et ses agents d'infection.* Thèse de Paris.

1893. GOODALL, *Veterinary Journal.*

1893. KOHN, Ein Fall von Pneumomycosis aspergillina. *Deutsche med. Wochenschrift* p. 1332.

1894. VON DUSCH und PAGENSTECHER, Fall von Pneumomycosis. *Virchow's Archiv*, CXXXVI, p. 561.

1894. THOMA, *Lehrbuch der allgemeinen pathologischen Anatomie*, p. 160.

1894. ERNST, Ueber eine Nierenmycose u. das gleichseitige Vorkommen

verschiedener Pilzformen bei Diabetes. *Virchow's Archiv*, CXXXVII, p. 486.

1894. KOTLIAR, Contribution à l'étude de la pseudo-tuberculose asp. *Annales de l'Institut Pasteur*, VIII, p. 479.

1894. GAUCHER et SERGENT, Un cas de pseudo-tuberculose asp. simple chez un gaveur de pigeons. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 6 juillet.

1894. MACKENZIE, Aspergillus mycose de l'antre d'Highmore. *New-York med. Journal*.

1894. RICKLER, Spross- und Schimmelpilze beim Menschen. *Ergebnisse. von Lubarsch*, I, p. 892.

1895. PODACK, Zur Kenntniss der Asp. mykosen in menschlischen Respiration apparat. *Virchow's Archiv*, CXXXIX, p. 260.

1895. BIEDL und KRAUS, *Archiv für exp. Pat. und Pharm.*, XXXVII, p. 105.

1895. BOURNAY, Pneumomycose aspergillaire chez une Vache. *Revue vétérinaire de Toulouse*. XV, p. 295.

1895. THARY et LUCET, Mycose asp. du Cheval. *Recueil de méd. vétérinaire*, p. 337.

1895. DUNN, Growth of the *A. glaucus* in human nase. *Arch. of Otology*, XXIV, p. 154.

1896. ARKLE and HINDS, Pneumomycosis. *Transact. of the pathol. Soc. of London*.

1896. RÉNON et SERGENT, Lésions pulmonaires chez un gaveur de Pigeons. *C. R. Soc. de biologie*.

1896. DROUIN et RÉNON, Note sur une mycose sous-cutanée innominée du Cheval. *C. R. Soc. de biologie*.

1896. R. BLANCHARD, Parasites végétaux à l'exclusion des bactéries. *Traité de pathologie générale* du Prof. Bouchard, II, p. 843.

1897. LUCET, *De l'A. fumigatus chez les animaux domestiques et dans les œufs en incubation. Étude clinique et expérimentale.*

1897. RÉNON, *Étude sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'Homme.*

1898. FROHMANS, Ueber Asp. mykose. *Deutsche med. Wochensch.*, p. 164.

1898. LEVADITI, Mycose pulmonaire du Lapin. *C. R. Soc. de biol.*, 1er octobre.

1898. LEVADITI, Mycose expérimentale de l'encéphale. *C. R. Soc. de biol.*, 5 novembre.

1898. ROUX et PAVIOT, Parasitisme des centres nerveux par mycose innominée. *Presse médicale*, p. 102.

1898. ARTAULT, Flore et faune des cavernes pulmonaires. *Arch. de parasitologie*, I, p. 272.

1898. OBICI, Ueber die pathogenen Eigenschaften des *A. fumigatus. Beiträge zur pat. Anat. u. zur allg. Pat.*, XXIII, p. 197.

1898. LIGNIÈRES et PETIT, Péritonite aspergillaire des Dindons. *Recueil de méd. vétérinaire*.

1899. DEVILLERS et RÉNON, Bronchite membraneuse, chronique aspergillaire, primitive. *Presse médicale*, p. 325.

1899. NIEL, *Contribution à l'étude de l'aspergillose des fosses nasales et des sinus de la face.* Thèse de Bordeaux.

1899. COLLA, Un caso di pseudo-tuberculosi pulmonare da Aspergillo fumigato in individua diabetica. *Clinica medica italiana*, p. 449.

1899. HERLA, Note sur un cas de pneumomycose chez l'Homme. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXV, p. 87.

1900. MALFITANO, La protéolyse chez l'*A. niger*. *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 60.

1900. MALFITANO, Sur la protéase de l'*A. niger*. *Annales de l'Institut Pasteur.*

1900. SAXER, *Pneumonomykosis aspergillina.*

1900. ROTHWELL, *Experimental Aspergillosis.*

1901. DÉMÉTRIADÉS, Cas d'Aspergillose pseudo-tuberculeuse. *Journal des praticiens*, p. 796.

1901. BLUMENTRITT, Ueber einen neuen im Menschen gefundenen *Aspergillus. Bericht d. deutsch. botan. Gesellschaft.*

1902. PEARSON und RAVENEL, Ein Fall von Pneumomykosis bei einer Kuh. *Zeitsch. f. Fleisch-und Milch-hygiene*, XII, p. 331.

1902. LESAGE. Germination des spores de *Sterigmatocystis nigra* dans la trachée de quelques Oiseaux *C. R. Acad. des sciences*, CXXXV, p. 632.

TABLE DES MATIÈRES

RARETÉ DES GALES

SARCOPTIQUE ET DÉMODECTIQUE

EN ALGÉRIE.

SUR UNE ÉPIDÉMIE DE GALE DÉMODECTIQUE DU PORC

PAR

LEGRAIN et RÉGULATO

La gale des différents Mammifères domestiques et de l'Homme est signalée comme fréquente en Algérie par les médecins et les vétérinaires. Notre observation nous permet de contredire l'opinion généralement admise : les acariases nous paraissent être des affections parasitaires particulièrement rares en Algérie.

On a souvent porté avec trop de précipitation et sans preuve à l'appui, le diagnostic de gale : bien souvent, en effet, nous avons eu l'occasion de constater que de prétendus cas de gale de la Chèvre, du Mouton, de l'Homme, n'étaient que des affections prurigineuses banales.

Nous n'avons jamais observé un seul cas de gale vraie du Chien ou de la Chèvre, par exemple. Cette rareté de la gale chez les Mammifères en Algérie trouve probablement son explication dans ce fait que les conditions d'existence de ces animaux ne sont pas favorables au développement des parasites cutanés. Les Sarcoptes souffrent en effet de l'exposition aux intempéries. Or, en été, les bestiaux supportent des chaleurs torrides ; en hiver, bien peu de troupeaux ont à leur disposition les abris nécessaires pour les protéger des pluies.

Chez l'indigène algérien lui-même, nous n'avons jamais observé de gale. Les prurits d'ordre hépatique ne sont pas rares, surtout au cours des affections gastro-intestinales, si fréquentes dans le pays. L'un de nous a insisté sur la fréquence chez les Kabyles, au cours de certaines années, de prurits ergotiques. Or, ces prurits, quelle qu'en soit l'origine, s'accompagnent toujours de lésions de

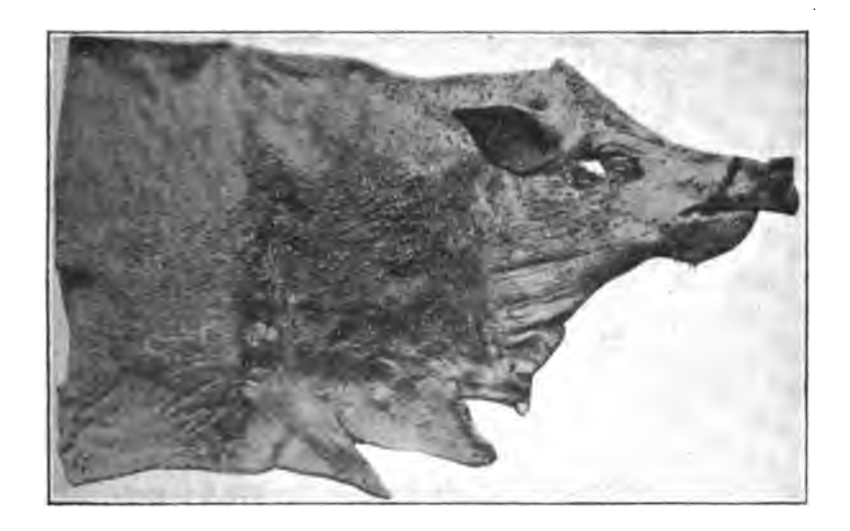
grattage qui, elles, cèdent facilement aux antiseptiques et aux soins de propreté.

D'ailleurs, si la gale se rencontrait chez les indigènes aussi fréquemment que certains auteurs ont bien voulu le dire, cette maladie présenterait une extension considérable, en raison de la promiscuité dans laquelle vivent les Arabes et du peu de soin qu'ils ont de leurs vêtements.

Contrairement aux idées généralement admises, nous insistons donc d'une façon spéciale sur l'extrême rareté des différentes acariases dans le nord de l'Afrique.

***

Nous avons récemment observé de la gale démodectique du Porc, localisée à un seul troupeau, d'ailleurs mal soigné. Les Porcs atteints



de gale démodectique n'étaient pas des Porcs importés : l'épidémie est donc autochtone.

Observée et décrite pour la première fois par Csokor, étudiée depuis par Neumann, Wright, Lindquist, la gale démodectique du Porc n'a pas encore été signalée en Algérie, du moins à notre connaissance. Elle est due au développement, dans les glandes

sébacées, du *Demodex folliculorum* (variété *Suis*), appelé parfois encore *D. phylloides*.

La maladie débute par des pustules variant du volume d'une tête d'épingle à celui d'une noisette. Ces pustules, constituées par l'accumulation de matières grasses dans l'intérieur des glandes sébacées, finissent par s'abcéder, laissant à leur place de larges ulcérations de la peau.

La photographie ci-jointe montre un spécimen de gale démodectique du Porc ; l'animal présente des milliers de phlyctènes varioliformes, renfermant chacune de nombreux *Demodex*, parfois plusieurs centaines. Il n'existe encore aucune ulcération.

Comme on peut s'en rendre compte, la maladie n'envahit que les régions molles et celles où la peau est fine : les joues, le front, le groin, la partie inférieure de la poitrine, les épaules. Les régions où la peau est épaisse, comme le sommet de la tête, le dos, la face externe des membres, sont à peu près indemnes.

Quel que soit le nombre des lésions pustuleuses, l'état général de l'animal ne paraît nullement modifié.

UNA NUOVA SPECIE

DI *HELICOMETRA* ODHNER

PER IL

Professore MICHELE STOSSICH

L'Odhner, nello studiare i tipi di alcune *Allocreadiinae*, divise le singole specie in due gruppi (1), dei quali ad uno mantenne il nome generico di *Allocreadium* Looss, mentre con le specie del secondo gruppo formò un nuovo genere, al quale impose il nome di *Helicometra* (2) in riguardo al percoso distintamente spirale dell'utero; a questo secondo genere riusci di aggregarvi tre specie e precisamente la *H. fasciata* (Rud.), la *H. pulchella* (Rud.) e la *H. sinuata* (Rud.). Quasi contemporaneamente alla ultima pubblicazione dell'Odhner vide la luce un mio lavoretto (3), nel quale sotto il nome di *Loborchis mutabilis* descrissi una nuova specie delle *Allocreadiinae* e questa costituirebbe il quarto rappresentante del genere *Helicometra*.

Ora per somma gentilezza del chiarissimo Prof. Dr I. C. Cori, direttore della Stazione zoologica di Trieste, ebbi a disposizione una rilevante quantità di *Centropristis hepatus* (L.) ed in questi che potei raccogliere sette esemplari di un *Helicometra*, che per alcuni caratteri specifici devo ritenere quale specie nuova e che denomino:

Helicometra flava, n. sp.

Lunghezza $1^{mm}5$-$2^{mm}5$. Larghezza massima 1^{mm}.

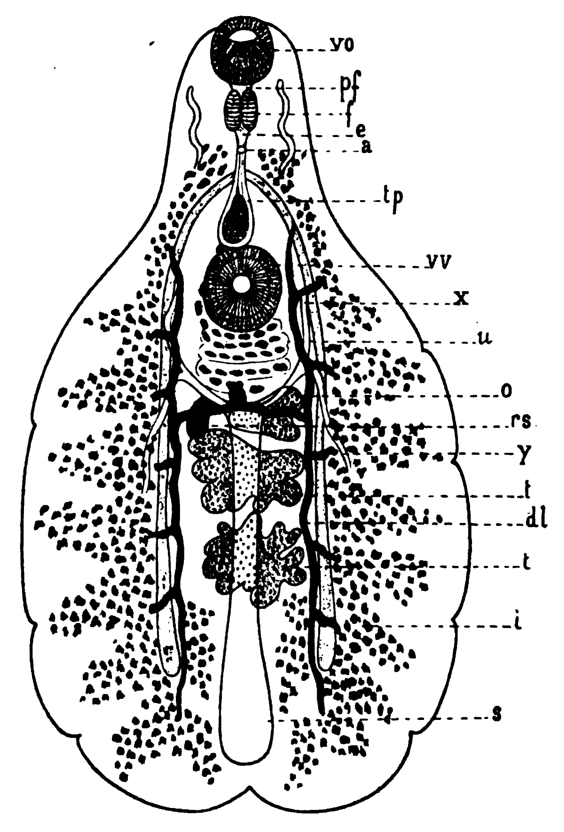
Ha corpo di colore giallo-rossiccio, inerme e poco contrattile; dopo morte assume una forma ovale, anteriormente assottigliato, posteriormente allargato rotondato; posto invece l'animale vivo sotto il vetrino, la sua parte posteriore si allarga moltissimo,

(1) Theodor ODHNER. Revision einiger Arten der Distomengattung *Allocreadium* Lss. *Zoologische Jahrbücher*, XIV, 1901, p. 483-520, tav. XXXIII.

(2) Theodor ODHNER, Mitteilungen zur Kenntniss der Distomen II. *Centralblatt f. Bakteriol.*, XXXI, 1902, p. 152-162.

(3) M. STOSSICH. Sopra una nuova specie delle *Allocreadiinae*. *Archives de Parasitologie*, 1902, p. 578-582.

mentre la parte anteriore si mantiene quasi cilindrica. Le due ventose sono robuste, orbicolari e la ventosa ventrale di poco più grande dell'orale. Per mezzo di una corta prefaringe la bocca communica con una faringe di forma allungata, dalla quale diparte



HELICOMETRA FLAVA, n. sp.

a, apertura genitale; *dl*, dutto vitellogene longitudinale; *e*, esofago; *f*, faringe; *i*, intestino; *o*, ovario; *pf*, prefaringe; *rs*, ricettacolo seminale; *s*, vescica di escrezione; *t*, testicoli; *tp*, tasca del pene; *u*, utero; *vo*, ventoso orale; *vv*, ventoso ventrale; *x*, ramo ascendente dell' organo escretore; *y*, ramo discendente dello stesso organo

un esofago sottile e di mediocre lunghezza, diviso in due sottili braccia intestinali e queste, a percorso fra loro parallelo, si mantengono distanti dai margini laterali del corpo e terminano alquanto allargate e distanti dall' estremo posteriore.

L'apertura genitale si trova all'innanzi della biforcazione intestinale; da essa diparte una piccola tasca del pene di aspetto periforme ed estesa fino al margine anteriore della ventosa ventrale oppure questo di poco sorpassandolo. I testicoli sono grandi, situati nel mezzo della parte postacetabulare, sovrapposti, contigui, di forma irregolare e riccamente e profondamente lobati; a questi immediatamente sovrapposto giace l'ovario, alquanto più piccolo lobato e sviluppato maggiormente verso sinistra. Il ricettacolo seminale è piccolo, subgloboso e situato a destra e in parte nascosto da un lobo dell'ovario. Sviluppatissimi sono i vitellogeni costituiti da numerosissimi follicoli piuttosto piccoli ed estesi all'esterno degl'intestini dall'estremo posteriore all'apertura genitale; due grappoletti di follicoli si osservano sotto il testicolo posteriore all'interno dell'intestino. I dutti vitellogeni longitudinali percorrono alquanto sinuosi all'interno degl'intestini e i due dutti trasversali si uniscono sopra l'ovario formando un ricettacolo vitellogene relativamente grande e allungato. L'utero coi suoi quattro giri a spirale si estende dall'ovario alla ventosa ventrale; le uova di colore giallo-bruno sono molto grandi, allungate quasi cilindriche e provedute di un lungo filamento polare.

La vescica di escrezione con sbocco dorsale, è più o meno voluminosa a seconda dello stato di contrazione dell' animale e si estende fino al ricettacolo vitellogene; essa dà origine anteriormente a due rami laterali sottili, dai quali ben presto dipartono due esili rametti laterali, che ripiegandosi posteriormente si perdono fra i vitellogeni, mentre i due rami principali terminano a serpentello e ciechi ai lati della ventosa ovale.

Questa specie vive rarissima nell' intestino del *Centropristis hepatus* (L.) (Trieste, febbraio 1903).

Con la scoperta della *H. flava*, il genere *Helicometra* viene ad essere rappresentato da cinque specie, che, considerato l'aspetto dei loro testicoli, si possono dividere in due gruppi; il primo gruppo coi testicoli a contorno intero, abbracciarebbe le due specie *H. pulchella* e *H. sinuata*, mentre nel secondo gruppo, coi testicoli lobati, si dovrebbero ascrivere la *H. fasciata*, la *H. mutabilis* e la *H. flava*. Confrontando ora le tre specie del secondo gruppo, risulterebbe: la *H. fasciata* caratterizzata per gl' intestini

estesi fino all' estremo posteriore e i vitellogeni estesi fino al margine anteriore della ventosa ventrale; nella *H. mutabilis* i vitellogeni prolungati da un' estremità all' altra del corpo, la tasca del pene allungata fino al centro della ventosa ventrale e questa in grandezza quasi il doppio della ventosa orale ; nella *H. flava* infine la tasca del pene piccola ed estesa fino al margine anteriore della ventosa ventrale, i vitellogeni che arrivano fino all' apertura genitale e gl' intestini distanti dall' estremo posteriore.

LES FILAIRES EN NOUVELLE-CALÉDONIE

PAR

LANG et **NOC**

Vétérinaire en 1[er] de l'artillerie coloniale.

Médecin aide-major de 1[re] classe des troupes coloniales.

Signalées en Nouvelle-Calédonie par les médecins de la marine et des colonies, les manifestations de la filariose n'ont pas fait jusqu'à ce jour l'objet d'une étude spéciale. Presque aussi répandue que dans les autres colonies du Pacifique, en Chine, au Japon et au Brésil, etc., cette endémie y exerce, en réalité, son action parasitaire sur différentes espèces animales. Aussi nous a-t-il paru intéressant de préciser en quelques lignes certains détails relatifs à l'étude clinique et parasitologique des trois espèces de Filaires que nous avons pu observer. Cette étude est forcément incomplète, le temps nous ayant fait défaut; mais elle ouvrira la voie, nous l'espérons, à des recherches ultérieures sur l'étiologie, la prophylaxie et le traitement de la filariose dans notre colonie du Pacifique.

I. — Filaria sanguinis-hominis.

Plusieurs des manifestations de la filariose ont été reconnues depuis longtemps en Nouvelle-Calédonie.

L'éléphantiasis (1), les lymphangites et les adénites ont été rencontrées bien des fois chez les indigènes, mais leurs rapports avec la filariose ont été surtout établis par analogie avec ce que l'on observe en d'autres régions (Tahiti, Australie, etc.).

En ce qui concerne l'éléphantiasis, ces rapports ne sont pas encore nettement établis; peut-être faut-il voir dans cet ordre de lésions l'association avec la Filaire d'un parasite plus difficile à percevoir, agissant dans un simple rapport de contiguité sur un terrain préparé par *Filaria sanguinis-hominis*? Toutefois, si l'éléphantiasis est répandu chez les Canaques d'une part, la présence des embryons de Filaire y est assez fréquente d'autre part chez des sujets n'offrant à l'examen que des troubles peu importants,

(1) Vinson, Paris, 1858. Moty, *Revue de chirurgie*, 1892.

tels que des ulcérations atoniques, d'irrégulières poussées érysipélateuses, ou même chez des individus jouissant d'une bonne santé apparente.

Nous avons observé ces embryons dans le sang de Canaques de la Grande-Terre et des îles Loyalty. Nous n'avons rien décelé chez quelques Européens examinés, mais nos recherches sur ce point n'ont pu encore être très nombreuses. Sur 117 examinés (indigènes ou européens) depuis plus de 20 ans en Nouvelle-Calédonie, des embryons de Filaire ont été rencontrés 4 fois. Les individus atteints ne présentaient que des troubles peu suspects ; ulcération du pied chez l'un, cataracte chez un autre, poussées érysipélateuses chez le troisième, et rien d'anormal chez le dernier. L'éléphantiasis a été constaté trois fois sans concomitance d'embryons dans le sang. On en cite quatre ou cinq cas à Nouméa, mais nous n'avons pu en pratiquer l'examen. Les entrées à l'hôpital pour ce motif sont d'ailleurs assez rares. Quelques Canaques sont à signaler çà et là dans les tribus, qu'il faudrait visiter en détail pour une statistique rigoureuse. Somme toute, l'endémie, méconnue jusqu'ici, est loin d'atteindre la proportion que l'on constate à Tahiti et dans les autres îles du Pacifique. Il y aura lieu néanmoins d'examiner un grand nombre de sujets et l'on sera sans doute frappé de la fréquence des embryons de Filaire chez des individus d'apparence normale, quelquefois même robuste ; on pourra constater d'ailleurs que c'est dans les tribus de l'intérieur que pareil fait se produit le plus souvent.

Dans ces divers cas méconnus de filariose, le sang examiné présente toujours un certain degré d'hypochromie et d'hypoglobulie, avec augmentation du nombre des globules éosinophiles; il s'ensuit qu'en Nouvelle-Calédonie, où le climat n'est pas meurtrier, où il n'existe pas de paludisme, en dehors des affections rebelles et apparentes, telles que la lèpre et la tuberculose, il y a lieu quelquefois, en présence d'un cas d'anémie inexplicable, de suspecter la présence de la Filaire.

Manson, en Chine, a déjà signalé la fréquente innocuité des embryons de Filaires pour les individus qui en sont porteurs. En opposition avec ce fait, il est intéressant de rapporter la possibilité, chez de jeunes sujets paraissant bien portants, d'une mort soudaine dont un simple examen microscopique peut donner

l'explication. Notre camarade, le Dr Judet de la Combe, nous a obligeamment communiqué trois cas de ce genre observés dans des circonstances identiques chez de jeunes indigènes. Les seuls symptômes enregistrés furent des convulsions pouvant faire penser à une crise épileptiforme et une température élevée : la mort est survenue en quelques heures. Le sang de l'un de ces individus, examiné au microscope, fourmillait d'embryons de Filaire.

Dans la recherche des embryons de Filaire, l'examen du sang à l'état frais est d'une technique facile. Les embryons se montrent entourés d'une gaîne dont ils se débarrassent à mesure que leurs mouvements s'abolissent sous la lamelle, ce qui la rend plus apparente. Il est préférable toutefois de s'adresser aux préparations colorées : pour la coloration des frottis, nous avons employé la méthode indiquée par de Nabias et Sabrazès (1) légèrement modifiée :

1° coloration au carmin boraté à 2 °/₀ pendant quelques heures ;

2° lavage à l'eau ;

3° thionine phéniquée quelques minutes, suivie d'un court lavage à l'alcool qui rend plus évidents les noyaux.

La capsule apparaît alors colorée en rose.

II. — Filaria immitis Leidy.

Signalée par R. Blanchard, qui en avait reçu de Nouvelle-Calédonie de nombreux exemplaires, la Filaire du Chien se présente avec les proportions d'une vaste endémie qui commence à frapper la majorité des Chiens à partir de l'âge de deux ans. Toutefois les Chiens observés à Nouméa paraissent moins fréquemment contaminés que ceux de la brousse ; encore ces derniers ne sont-ils frappés que s'ils vivent en pleine liberté.

Sur 127 Chiens examinés, 60 ont présenté des embryons dans le sang. Sur ces 60 Chiens parasités, le plus grand nombre avait déjà atteint l'âge de trois ans. Au-dessous, le nombre des Chiens infestés va en décroissant : on n'en observe pas au-dessous de l'âge d'un an. Le nombre décroît également à partir de sept ans, et la raison est qu'avant de parvenir à cet âge la plupart des Chiens ont disparu.

Sur les 60 Chiens parasités, 55 étaient des Chiens de brousse

(1) *Société de Biologie*, 1893.

(Chiens de bétail, de chasse, etc.) ou des Chiens de rue, vagabonds ; 5 seulement étaient des Chiens de ville (Nouméa), tenus à la maison depuis leur naissance. Les Chiens de brousse qui ont dépassé l'âge de trois ans sont d'ailleurs des Chiens tenus presque constamment à l'attache.

De même que chez l'Homme, la Filaire peut exister chez le Chien sans révéler sa présence pendant de longs mois. Une première période, dont la durée est difficile à évaluer et paraît être de quelques mois à un an, est celle qui va de l'introduction des larves de Filaire au moment où elles sont transformées en Vers adultes (incubation). Cette transformation une fois effectuée, les adultes, cantonnés au cœur le plus souvent, peuvent lancer dans la circulation un nombre incalculable d'embryons sans que les symptômes classiques apparaissent. Plus tard, le nombre considérable de Vers dans telle ou telle région de l'appareil circulatoire détermine un ensemble symptomatique ou un accident grave qui peut éclater subitement. Les signes qui se manifestent d'une façon presque constante à cette période d'état de la maladie sont :

1° la toux rauque, sèche, caractéristique, survenant par accès, pouvant servir à fixer le diagnostic dès son apparition, en l'absence de diagnostic microscopique ;

2° la respiration haletante (costale), s'exaspérant sous l'influence de la moindre course, phénomène toujours observé chez les Chiens de chasse ;

3° l'amaigrissement avec périodes de tristesse et d'anorexie ;

4° l'ascite plus ou moins abondante, s'accompagnant quelquefois d'œdème du fourreau ;

5° des épistaxis répétées et des hématémèses après une course prolongée.

On peut encore noter des manifestations analogues à celles que l'on observe dans les cas de rage mue, c'est-à-dire fixité du regard, abattement, photophobie, etc.

A ces signes prédominants s'ajoutent, à une période avancée : l'hématurie, le souffle labial, les crises épileptiformes, la fièvre, l'appétit capricieux, les troubles cardiaques et finalement la mort plus ou moins rapide, qui survient toujours soit par asphyxie, soit par embolie ou même par hématémèse.

La toux persistante, lorsqu'elle prédomine, indique de préférence un envahissement des artères pulmonaires ou des bronches par les Vers adultes. Quand le cœur droit est seul envahi, la toux paraît être moins fréquente et peut même ne pas exister.

Les crises épileptiformes sont à rapprocher de ce qui a été observé chez de jeunes Canaques et font songer à une obstruction passagère des vaisseaux encéphaliques par les embryons.

Anatomie pathologique. — Le siège habituel des Vers adultes est le cœur droit, d'où ils refluent le plus souvent soit dans les artères pulmonaires, soit dans la veine hépatique, soit encore dans la veine cave, quelquefois jusqu'aux iliaques. On les trouve aussi dans les veines pulmonaires, dans les bronches, dont ils peuvent gagner les plus fines ramifications à travers le parenchyme pulmonaire.

Sur 12 autopsies pratiquées sur des Chiens parasités, nous avons noté :

Vers dans le cœur droit	10 fois	
» dans les artères pulmonaires. .	1 fois	
» dans le cœur gauche	1 fois	
» dans les veines caves	2 fois	(par extension)
» dans les bronches	1 fois	par concomitance.
» dans les veines pulmonaires . .	1 fois	

Cinq fois sur dix, les Filaires s'irradiaient du cœur droit dans les artères pulmonaires. Les dimensions des Vers sont connues : 12 à 18 centimètres pour le mâle, 25 à 30 pour la femelle ; dans un cas, celles-ci ont atteint jusqu'à 36 centimètres.

Leur nombre dépasse souvent 100 et même 150, contrairement aux faits observés dans d'autres contrées. Dans ces conditions, il paraît impossible de les atteindre, soit médicalement, soit chirurgicalement.

Voici d'ailleurs les chiffres constatés :

1er cas : 96 Vers (dont 40 ♂ et 56 ♀).
2me cas : 52 Vers (dont 24 ♂ et 28 ♀).
3me cas : 49 Vers (dont 22 ♂ et 27 ♀).
4me cas : 153 Vers (dont 53 ♂ et 100 ♀).
5me cas : 123 Vers (dont 46 ♂ et 77 ♀), plus de nombreux Vers engagés dans les artères pulmonaires et englobés dans un caillot fibrineux.
6me cas : 156 Vers (dont 62 ♂ et 94 ♀).

7me cas : 23 Vers (dont 10 ♂ et 13 ♀).
8me cas : environ 16 Vers.
9me cas : gros bouchons dans les artères pulmonaires difficiles à compter.
10me cas : 36 Vers (dont 18 ♂ et 18 ♀).
11me cas : 64 Vers (dont 29 ♂ et 35 ♀).
12me cas : 20 Vers dans le cœur droit et Vers nombreux et agglomérés dans les artères.

Les lésions anatomo-pathologiques dues à la présence des Vers adultes sont peu apparentes et se résument surtout dans une légère dilatation du cœur droit. Leur action est en effet purement mécanique : enroulement autour des cordages valvulaires, irritation des bronches et du parenchyme pulmonaire, compression et obstacle à la circulation, ainsi que le montre le tableau suivant :

Dilatation du ventricule droit	6 fois.
Enroulement des Vers autour des piliers valvulaires . . .	6 »
Ascite	2 »
Hypertrophie du foie et de la rate.	2 »
Thrombrose pulmonaire.	1 »
Pseudo-tuberculose	1 »
Dégénérescence granulo-graisseuse du foie	1 »
Congestion pulmonaire	2 »

Dans un cas de thrombose de l'artère pulmonaire, il existait autour d'un paquet de Vers un caillot fibrineux de la grosseur d'une noix ; quelques-uns des Vers au centre des strates avaient pris une teinte jaunâtre ; d'apparence rétractée, ils étaient immédiatement insérés dans une couche de tissu compact et calcifié. La même apparence des Vers a été retrouvée dans de fines ramifications de l'artère pulmonaire, où ils formaient un embolus déjà environné par du tissu néoformé et ayant subi un commencement de calcification. Dans un autre cas, la base du poumon contenait des foyers de nécrose, des abcès de la grosseur d'une noisette, les Vers ayant provoqué des lésions de pseudo-tuberculose.

Embryons. — Les embryons, dont la description est bien connue, se répandent dans l'organisme tout entier, y compris les sécrétions et les humeurs excrémentitielles (sang, lymphe, tube digestif, sécrétion lactée, quelquefois même dans l'urine).

Leur nombre est formidable et dépasse l'imagination : il suffit, pour s'en rendre compte, de piquer de préférence la veine marginale

de l'oreille, et l'on observe, à un faible grossissement, une multitude de ces embryons dans une goutte de sang. Leurs dimensions, d'ailleurs connues, sont les suivantes : 5 μ de largeur, 280 à 300 μ de longueur. Ils se distinguent facilement des embryons de *Filaria recondita* du Chien, en ce qu'ils ne se fixent jamais à la lamelle par l'extrémité orale.

Ils déterminent par leur présence l'hypertrophie du foie et de la rate, où on les trouve en très grand nombre dans les capillaires dilatés. Le sang présente des altérations quantitatives et qualitatives : hyperglobulie, hypochromie et hyperleucocytose. Ces trois signes concomitants sont en rapport avec le nombre des embryons observés dans les dilutions de l'hématimètre.

Le chiffre des leucocytes, qui est entre 7 et 8.000 à l'état normal, peut s'élever à 30.000 et au-delà. Quant aux globules rouges, ils subissent une diminution croissante avec l'aggravation de la maladie. Leur nombre qui, normalement, est de 6.500.000 à 7.000.000 (hématimètre de Malassez) peut descendre à un million et au-dessous.

L'hyperleucocytose porte principalement sur les polynucléaires (neutrophiles et éosinophiles). L'augmentation des éosinophiles est à rapprocher du même fait, déjà observé dans la filariose de l'Homme.

Le meilleur procédé de coloration du sang consiste dans l'emploi de la thionine phéniquée de Nicolle. Ce colorant met bien en évidence la constitution intime des embryons, qui apparaissent colorés en violet, comme les noyaux des leucocytes, tandis que les globules rouges sont colorés en vert pâle. Le même procédé de coloration s'applique, comme nous l'avons déjà vu, à l'étude des embryons de *Filaria sanguinis-hominis* qui présentent cependant une particularité, celle de posséder une gaîne transparente dont ils se débarrassent au moment de mourir.

Etiologie. — La transmission de la filariose par les Moustiques a été démontrée par les remarquables travaux de Ross et de Grassi.

Un point qui nous a frappés spécialement, c'est le peu de résistance des embryons, dès qu'ils sont séparés de l'organisme du Chien ou du sang de l'animal. Alors qu'on les retrouve tous mobiles dans le caillot formé par le sang du Chien, ils périssent

en un temps qui varie de quelques minutes à quelques heures dans le sérum sanguin ou dans le sérum artificiel, dans le sérum de divers Mammifères, dans l'eau, dans le tube digestif des larves de *Culex*, dans celui de divers Insectes. Seul le tube digestif du *Culex* adulte permet de les observer vivants pendant plusieurs jours, encore qu'un grand nombre périssent peu de temps après l'ingestion.

Sous l'influence des sucs digestifs du Moustique, ils prennent une apparence striée; le corps présente des nœuds et des rétrécissements alternatifs, les mouvements sont abolis. Quelques-uns cependant de ces embryons réussissent à gagner la partie antérieure du tube digestif : nous en avons vu, après plusieurs jours, très mobiles et d'apparence normale dans la portion thoracique. Nos recherches n'ont pu être poursuivies assez longtemps pour nous permettre d'exposer ici la transformation complète des embryons en larves inoculables par la trompe du *Culex*. On sait que peu de Moustiques laissent observer la transformation complète, beaucoup ayant cessé de vivre avant le dix-septième jour d'observation. Néanmoins, il nous paraît démontré que le *Culex* commun est l'agent spécial où l'embryon de *Filaria immitis* conserve sa vitalité, et ainsi se trouve précisée l'origine des contaminations multiples pour les Chiens de chasse et les Chiens de bétail en particulier. Les *Culex* sont extrêmement nombreux en Nouvelle-Calédonie, où leur présence, en certains points, constitue un véritable supplice.

Les Chiens paraissent, le plus souvent, piqués au niveau des oreilles, où la peau est plus fine, et c'est ainsi que s'expliquerait le développement presque constant des Vers adultes dans la cavité droite du cœur.

PROPHYLAXIE. — La prophylaxie de l'affection est, d'après ces données, sinon facile à réaliser, du moins importante à établir. Dans une certaine mesure, il est en effet possible de mettre les Chiens à l'abri des inoculations qui se pratiquent surtout la nuit, il est facile d'éliminer d'une meute ou d'un chenil tout animal qui présente des embryons dans le sang : un simple examen microscopique pratiqué sur le sang recueilli pendant la nuit permet dès le début de reconnaître l'affection et d'en empêcher la propagation, tant que les Chiens sont tenus au logis. La construction de chenils

grillagés est à recommander. Enfin, d'une façon générale, tant pour l'Homme que pour les animaux (le premier étant exposé à la contamination par *Filaria sanguinis-hominis*), il est nécessaire d'organiser la lutte contre les Moustiques, ainsi que les moyens de les détruire autour des habitations (éviter les eaux stagnantes, ne conserver l'eau qu'en des réservoirs bien clos, répandre de l'huile de pétrole sur les mares, etc.).

Traitement. — Le traitement proprement dit de la filariose chez le Chien est inapplicable. Nous avons tenté divers essais, non avec l'espoir d'une réalisation pratique (le nombre des Vers, leur siège, sont des obstacles trop évidents), mais afin de démontrer mieux encore la nécessité de travailler à la prophylaxie d'une affection indéracinable une fois implantée dans l'organisme. Nous avons essayé divers agents médicamenteux dont l'action *in vitro* s'est montrée très rapidement efficace, entre autres le sulfure de calcium, le monosulfure de sodium, le chlorhydrate de quinine. Une goutte de solution très étendue de ces médicaments tuait les Vers immédiatement sous l'objectif du microscope. Injectées à faible dose, ces solutions ont paru stimuler passagèrement l'organisme du Chien, mais des doses de 75 centigrammes à 2 grammes, en injections sous-cutanées ou intraveineuses, en solutions étendues, produisaient des accidents graves chez l'animal, tout en laissant indifférents les embryons et les adultes de *Filaria immitis*.

Le sérum de Chien parasité paraît contenir des toxines ou des poisons plus ou moins complexes : les injections de ce sérum chez le Chien malade abaissent le nombre des globules blancs et aggravent l'état du sujet. Nous avons également injecté de l'extrait de Filaire obtenu par la filtration sous pression des corps d'adultes retirés aussitôt après la mort, lavés et broyés dans la solution physiologique de chlorure de sodium ; mais les propriétés passagères acquises par le sérum de l'animal injecté avec ces produits toxiques ne sauraient être efficaces vis-à-vis d'un organisme complexe tel qu'une Filaire qui échappe à l'action de la phagocytose. Peut-être pourrait-on parvenir cependant à rendre réfractaire l'animal contre l'inoculation des larves par la trompe des Moustiques ?

Une dernière tentative, qui présente de graves difficultés, quoi-

que fort rationnelle, est d'aller à la recherche des adultes dans le cœur droit, d'en tenter l'extraction totale ou partielle suivie de la suture des lèvres de la plaie myocardique. Le siège des Vers étant le cœur droit dans la majorité des cas, on pourrait ainsi donner une survie aux Chiens, en leur enlevant la cause même de leurs accidents. La difficulté est d'agir vite, afin d'éviter une trop forte hémorrhagie. Encore l'opération est-elle fort peu bénigne, en dépit de l'indifférence que peut présenter le cœur au traumatisme opératoire. Aussi ne citons-nous cette tentative qu'à titre de curiosité scientifique.

III. — Filaire de la Poule (*Filaria Mansoni* Cobbold, 1879).

Cette Filaire est extrêmement répandue en Nouvelle-Calédonie où on l'observe sous la membrane clignotante de l'œil des Gallinacés des deux sexes et de divers âges (1).

La structure du Ver correspond exactement à celle de la Filaire observée par Manson à Amoy (Chine) dans les yeux de la Poule.

Ce parasite existe généralement dans les deux yeux, uniquement sous la troisième paupière, d'où on le voit quelquefois faire saillie et glisser sur le pourtour de la cornée ; mais, dans la majorité des cas, il passe inaperçu des éleveurs et ne paraît déterminer chez l'animal d'autres troubles qu'une sensation d'irritation passagère qui provoque le grattage des paupières.

Le nombre des Vers trouvés dans chaque œil peut varier de 2 à 40. Ce nombre est toujours pair, le mâle et la femelle étant le plus souvent accolés l'un à l'autre. Le mâle est long de 16 à 20^{mm}, la femelle de 18 à 23^{mm}. Le corps est blanchâtre, filiforme, plus grêle du côté de l'extrémité céphalique qui est arrondie, effilé vers l'extrémité postérieure ou caudale. Bouche terminale orbiculaire, inerme, munie de renflements peu distincts. Le mâle a la queue recourbée et non munie d'ailes membraneuses. Il possède 4 ou 5 papilles, dont 2 préanales plus petites et 2 ou 3 postanales, avec 2 spicules très inégaux. Les œufs sont extrêmement nombreux et occupent la presque totalité du corps de la femelle. Ils sont ovoïdes et se présentent à différents stades de développement, à leur sortie

(1) Les *Filaria Mansoni* recueillies par nous ont été déposées au Laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris (collection R. Blanchard, n° 818).

de l'utérus. La vulve est placée près de la partie postérieure du corps.

L'extraction de ces Filaires est très délicate, les Vers se retirant sous les replis de la conjonctive sous-palpébrale et ne pouvant être atteints qu'au moyen d'une pince fine.

En certaines régions, la proportion des sujets contaminés est très considérable. Un éleveur du centre de Koumac nous écrit que tous les animaux de sa volière (300 têtes) présentent des Filaires dans les yeux. A Nouméa, sur 161 sujets examinés, 90 présentent des Filaires sous la membrane clignotante, c'est-à-dire environ 56 pour 100. Les volières indemnes sont d'ailleurs peu frappées par les autres maladies infectieuses des Volailles.

Bien que, d'une façon générale, ces parasites ne déterminent aucun symptôme fâcheux, il nous paraît intéressant de signaler les rapports possibles de cette affection avec une endémie très répandue en Nouvelle-Calédonie, où elle cause de grands ravages sur les Volailles, la diphtérie aviaire.

Dans une étude récente, Guérin (1) a fait l'étude expérimentale de la diphtérie, dont il a classé le Cocco-bacille spécifique ; il a même obtenu de bons de résultats dans la vaccination, et a tenté également la sérothérapie de cette affection. Il signale, en particulier, la fréquence des lésions oculaires de la diphtérie, qu'il explique par le grattage des animaux avec leurs pattes souillées par les excréments.

Or, en Nouvelle-Calédonie, la diphtérie aviaire est très répandue sous ses différentes formes. Nous en avons isolé un Cocco-bacille identique à celui qui est décrit par Guérin et reproduit expérimentalement des lésions pseudo-membraneuses. La diphtérie oculaire en particulier est des plus fréquentes, mais le plus souvent les animaux sont atteints de diphtérie pharyngée ou intestinale, en même temps que de diphtérie oculaire.

Celle-ci paraît débuter dans les milieux internes de l'œil, sous la cornée généralement, où le microbe se cultive et détermine la formation d'un nodule blanchâtre qui s'irradie peu à peu vers les membranes.

Etant donnée la concomitance fréquente des deux phénomènes,

(1) Guérin, La diphtérie aviaire. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901.

filariose de l'œil et diphtérie oculaire, par analogie avec le rôle joué par les Trichocéphales dans la production de l'appendicite, il y a lieu de se demander si les Vers ne jouent pas ici le rôle d'agents irritatifs favorisant la fixation dans les milieux oculaires du Cocco-bacille qui circule à travers les différentes humeurs dans la diphtérie aiguë et chronique des Volailles. Il n'est pas douteux d'ailleurs que la présence des Vers au-devant de l'œil ne provoque le grattage fréquent avec les pattes souillées d'excréments, et que les parasites soient tout au moins des agents irritatifs pouvant amener l'inoculation de la cornée avec le Cocco-bacille diphtérique.

Les autres espèces de Volailles répandues dans les basses-cours ne paraissent pas être porteurs de *Filaria Mansoni.*

Nos recherches sur les Filaires en Nouvelle-Calédonie se sont étendues à d'autres espèces animales : Bovidés, Ovidés, Oiseaux, Cerfs, Roussettes (*Pteropus edulis*), sans nous permettre de découvrir jusqu'ici d'autres espèces de ces parasites.

PARTENOGENESI DEI MACROGAMETI
DI UNA VARIETÀ DI LAVERANIA
(*LAVERANIA MALARIAE* var. *MITIS*)

(Osservazioni sulle forme della infezione malarica nella provincia di Barcellona)

NOTA DEL

Dr **GUSTAVO PITTALUGA**

In un lavoro compiuto in collaborazione col Prof. Martinez Vargas, della Università di Barcellona, io ho accennato ad una forma prevalente di infezione estivo-autunnale nei paesi malarici del basso-piano di Lobregat. Poco avanti che io avessi compiuto queste ricerche (le quali debbono del resto essere continuate ancora), Schaudinn, occupandosi incidentalmente della questione, nella sua recente e notevole memoria sul *Plasmodium vivax* (1) scriveva che : « ... in Istria la febbre tropicale (estivo-autunnale) si presenta sempre con forma lieve, di modo che non mai gli è stato possibile praticare autopsie perchè i casi di morte dovuti a questa forma sono molto rari ».

Dalle mie osservazioni risulta appunto che nella Provincia di Barcellona, e in generale nelle regioni malariche della Catalogna, la forma perniciosa della infezione estivo autunnale è rarissima, ed i casi di morte da malaria sono dovuti soprattutto alla cachessia palustre e alle gravi lesioni organiche prodotte dal continuo recidivare della infezione. Nello stesso tempo debbo notare che secondo i dati statistici, la mortalità è straordinariamente ridotta in paragone con la morbilità malarica ; questa sproporzione sarebbe facilmente spiegabile se tutte le invasioni febbrili fossero dovute al *Plasmodium vivax* o al *Plasmodium malariae* (terzana e quartana) ; ma invece in un grande numero di casi si dimostra

(1) *Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XIX, 1902; nota a pag. 194.

con l'esame del sangue, oltre che ai segni clinici, la presenza dei parassiti estivo autunnali (1).

Questi fatti sono completamente d'accordo con le osservazioni di Grassi, espresse in riassunto nelle seguenti parole (2) : « Io distinguo nella *Laverania malariae* due varietà : *mitis* ed *immitis*: la *immitis* rara assai nell' Italia settentrionale e nei dintorni di Catania. Come ho già accennato fin dal 1899, fin' ora sono distinguibili con sicurezza soltanto dal punto di vista clinico. Infatti, come Feletti e ed io abbiamo stabilito nei dintorni di Catania, e come io ho notato anche nell' Italia settentrionale, le febbri malariche prodotte dalla *Laverania malariae* (distinte dalle altre per la prima volta da Golgi), sono ostinate, ma quasi sempre relativamente miti, mentre le febbri malariche prodotte dalla stessa specie di parassita diventano nell' Italia media e meridionale spesso gravi, degenerando in perniciose (distinte per la prima volta soprattutto da Marchiafava). Ciò viene confermato anche recentemente da Celli, il quale rende noto come nelle gran valle del Po vengano volgarmene distinte come febbri *agostane* quelle che io ho detto ostinate, ma miti. »

Orbene, mentre l'esame clinico degli ammalati, da me seguiti nelle contrade malariche della provincia di Barcellona, poneva in rilievo un fatto già notato da Feletti, cioè la mancanza abituale del tumore splenico in questi casi di infezione estivo autunnale (*Laverania malariae* var. *mitis*), d'altra parte un esame sistematico del sangue in cotesti ammalati, mi conduceva ad osservare i momenti della evoluzione delle forme parassitarie in rapporto con la produzione delle recidive, e quindi con il decorso clinico generale della infezione dovuta a questa varietà parassitaria.

Dire che manca in questi casi l'infarto splenico non significa che non si sia osservato il piccolo tumore acuto di milza nell' inizio del periodo infettivo, giacchè questo s'incontra invece quasi costantamente, accompagnato da dolore alla palpazione, talvolta anche da dolore spontaneo; ma io mi riferisco al tumore cronico e progressivo della milza, il quale apparisce rapidamente in quelle

(1) Cf. il volume pubblicato sotto la mia direzione, nell'aprile di quest'anno 1903, e presentato al 14° Congresso internazionale di Medicina in Madrid : *Investigaciones y estudios sobre el paludismo en España*; cf. p. 69, *El Paludismo en Cataluña, etc.*, — dove sono radunati i dati al riguardo.

(2) B. Grassi, *Studi di uno zoologo sulla malaria*, 2. ed., 1901, p. 171.

gravi infezioni estivo-autunnali che o non sono arrivate all' acme della perniciosità, o l'hanno superato, ma debbono in ogni modo riportarsi all'azione della *Laverania malariae*, var. *immitis*, cioè del comune parassita delle febbri tropicali.

Io ho incontrato, e con me hanno incontrato spesse volte i médici che mi hanno coadiuvato in queste ricerche, nei luoghi malarici della costa catalana, ammalati che presentavano uno stato di profonda anemia, con accessi febbrili durante alcuni giorni del mese, cioè con perenni recidive, con edemi, etc..., e quando cercavamo cotesto sintoma tanto dimostrativo, cioè il tumore di milza, eravamo spesse volte maravigliati per il risultato negativo della nostra esplorazione.

Vedremo fra poco come, appunto, questo dato clinico possa mettersi in relazione con la biologia di quella varietà parassitaria (*Laverania malariae* var. *mitis*) alla quale mi sembra di dover ricondurre queste manifestazioni della endemia malarica in Catalogna.

L'esame sistematico del sangue, eseguito in alcuni di questi ammalati, mi ha condotto, infatti, alle conchiusioni che or ora esporrò. Ma prima, debbo ricordare i nomi delle persone onde furono tratte le preparazioni più interessanti e più dimostrative, i luoghi ed i momenti in cui furono esaminate (1).

1. Agustin Hurtado de Mendoza, 23 anni, carabinero (Prat de Llobregat, presso Barcellona). — 20 agosto 1902. Febbre da 4 giorni. Parassiti estivo-autunnali (*Laverania*) endoglobulari abbondanti, e forme semilunari in varie fasi di evoluzione.

2. Domingo Brasò, 44 anni, operaio (Castelldefels, presso Barcellona). — 19-28 agosto. Infezione estivo-autunnale (certamente primitiva). Il 26 agosto, forme semilunari abbondanti nel sangue periferico.

3. Pascual Salvador, 34 anni, operaio (Castelldefels, presso Barcellona). 26 settembre-1 ottobre. Al 4° accesso forme semilunari nel sangue periferico.

4. José Alcazar, 26 anni, operaio (Castelldefels. 1ª osservazione, 29-30 settembre ; 2ª osservazione 25-30 ottobre). Febbre recidiva di infezione estivo-autunnale : il 26 ottobre si sorprendono le forme

(1) Vedi anche, per più minuziosi ragguagli, *loc. cit.* : Martinez Vargas e Pittaluga, *El paludismo en Cataluña*, etc., p. 78 e seg. e p. 113.

semilunari femminili in fase di divisione nucleare e di successiva emissione di sporozoiti.

5. Manuel Pons, 31 anni, operaio (Castelldefels). — 19-24 ottobre.

6. Baltasar Ventura (Castelldefels). — 1-20 marzo 1903. Recidiva di infezione estivo-autunnale e terzanaria (infezione doppia). Gameti semilunari si presentano durante tre giorni nel sangue periferico, mentre esistono abbondanti forme endoglobulari di *Pl. vivax*, e scarsissime forme endoglobulari di *Laverania* compaiono secondariamente.

7. Manuel Roca, impiegato ferroviario. — Di questo caso posseggo la Storia clinica durante quattro mesi e mezzo, dal Gennaio al Maggio di quest' anno. Dimostrò la presenza di forme semilunari a più riprese, precedenti i periodi febbrili caratteristici di una infezione da *Laverania malariae* var. *mitis*.

8. Mariano Romagosa, di 29 anni, Castelldefels.

9. Eduardo Gonzalez, 20 anni (idem, 20 agosto-20 settembre).

10. Luis Prats Martí, 16 anni (ibidem, 10 settembre).

11. A. Raventós y Gutierrez, 33 anni (ibidem, 1ª osservazione, 5-14 settembre; 2ª osservazione, 7-15 ottobre).

12. J.-A. Ribas, 39 anni (ibidem, 9-16 settembre).

13. R. Rufas, 25 anni (ibidem, e poi in Barcellona stessa: 1ª osservazione, 19-30 settembre; 2ª osservazione, 20-25 ottobre).

14. J. Casas, 25 anni (28 settembre-17 ottobre).

15. A. Garcia Moreno, 32 anni (Prat de Llobregat, presso Barcellona, 20-28 agosto).

16. Juan Sastre Peries, 11 anni (ibidem, 30 agosto-3 settembre).

Questi casi sono particolarmente importanti per le relazioni tra i fatti clinici e il reperto parassitario.

Io ne traggo le conclusioni seguenti:

A) Si nota una prococe formazione dei gameti e una rapida ed abbondante comparsa di questi ultimi nel sangue periferico. Indicando con i il numero delle generazioni occultate dal periodo d'incubazione; e con n il tempo necessario alla formazione dei gameti (negli organi interni ?), possiamo indicare con

$$i + n + 12$$

la media dei giorni d'infezione dopo di che si presentano i gameti semilunari nelle forme gravi, e in generale nella terzana estivo-

autunnale tipica (con perniciose), propria di Roma, Terracina, etc., e dei tropici; — invece con

$$i + n + 4$$

la media nei casi da noi osservati e attribuiti alla var. *mitis*.

Dunque la minore malignità subitanea delle febbri (*Laverania mitis*), nelle quali manca o è rarissima la perniciosa, può essere ricondotta, in parte, alla causa ricordata in a). In una proporzione maggiore che nella *L. immitis*, e più sollecitamente, forme endoglobulari si sviluppano come corpi sessuati, invece di evolvere sino alla schizogonia.

È chiaro che al 3° accesso (5° giorno) dall'inizio della febbre — (al 4° in molte forme quotidiane) —, un numero relativamene minore di sporozoiti schizogonici (merozoiti) invade nuove emazie, poichè, in parte, i mononti che avrebbero dovuto generarli si sono sviluppati come gameti, e perciò hanno sospeso la schizogonia.

B) Le recidive di queste febbri si producono a intervalli non molto grandi, ma resistono enormemente ai sali di chinina, o a dir meglio, i sali di chinina non valgono in alcun modo a impedirne la successiva ricomparsa. Questo fatto le distingue da alcune recidive che hanno origine dai mononti residuali della infezione primitiva (ricadute?).

Con lo studio parassitologico durante i periodi precedenti alle recidive (cioè fra gli accessi primitivi e quelli della recidiva), si mettono in rilievo dei fatti molto importanti, i quali trascendono dalla ricerca di queste forme di *Laverania* e riguardano tutta la questione della partenogenesi dei macrogameti.

Io non ritorno a questo proposito sulle questioni storiche e sulle interpretazioni successive, riguardanti la produzione delle recidive nelle febbri malariche, e particolarmente nelle febbri estivo-autunnali. Riguardo alla segmentazione dei corpi semilunari è tuttavia doveroso ricordare le osservazioni di Canalis, alcune esatte descrizioni di Mannaberg, infine le parole di Camillo Golgi, il quale aveva indicato nelle semilune « un processo di interno differenziamento » per cui sembravano da esse distaccarsi porzioni nucleari.

Nel 1890, Grassi e Feletti scrivevano : « Abbiamo trovato a fresco, nel sangue non colorito, delle semilune con nucleo a cifra otto e talvolta nettamente con due nuclei, amendue circondati da

pigmento. Qualche rara volta notavasi uno strozzamento della stessa semiluna con due nuclei; allora uno di essi trovavasi al di qua e l'altro al di là dello strozzamento. Queste figure, a nostro parere, preludiano alla riproduzione ».

D'altra parte, Grassi e recentemente anche Laveran, hanno descritto chiaramente nell'*Halteridium* il processo di riproduzione dei gameti (divisione). Questo argomento aveva già un valore molto superiore a quello dei semplici esempi per analogia; sui quali ultimi, citati da Grassi (*loco citato*, p. 164), e da altri, non mi trattengo affatto in questo luogo.

Finalmente Schaudinn ha osservato, nel *Plasmodium vivax*, la riproduzione partenogenetica del macrogamete « 48 ore prima dell'accesso iniziale di una recidiva che sopravveniva a 3 mesi e mezzo di distanza ». La descrizione del processo di formazione e poi di divisione del macrogamete, il comportamento delle masse cromatiche nucleari, e la formazione degli sporozoiti schizogonici da una porzione (nucleare e protoplasmatica) del macrogamete, vi sono evidenti.

Or bene, questi stessi fatti, sebbene manchevoli della osservazione di molti momenti del processo riproduttivo, sono stati osservati da me nei periodi precedenti alle recidive delle febbri estivo-autunnali prodotte dalla varietà parassitaria che noi chiamiamo *Laverania malariae* var. *mitis*. Del resto, Schaudinn stesso promette di pubblicare prossimamente un lavoro sulla evoluzione della *Laverania*, le conclusioni del quale serviranno certamente di complemento e anche di maggiore schiarimento alle mie osservazioni. Ad ogni modo, in seguito a un accurato confronto tra le molte preparazioni tratte dagli ammalati di Barcellona e del basso-piano di Lobregat con le conclusioni di Schaudinn, mi sembra di poter affermare:

1° Che le forme semilunari del macrogamete della *Laverania* subiscono il processo di segmentazione trasversale a cui avevano accennato alcuni degli autori precedenti, e sul quale aveva particolarmente insistito Grassi.

2° Che questo processo avviene *anche* nel sangue periferico. Noi non sappiamo se esso abbia una sede di predilezione, o a dir meglio se il periodo vitale di preparazione per la partenogenesi debba essere attraversato dai macrogameti in un ambiente biochimico

determinato, e se l'atto medesimo debba compiersi preferibilmente sotto uno stimolo speciale. Può anche darsi che esso avvenga a distanze di tempo *costanti*, predeterminate fra i caratteri ereditari. Ciò conforterebbe l'ipotesi avanzata intorno alla biologia della *Laverania malariae* var. *mitis*. Ma certamente forme partenogenetiche sono state osservate nel sangue periferico.

3º Che nel processo della divisione del macrogamete si producono per schizogonia, in seguito ad una moltiplicazione (che si avvicina alla mitosica) delle masse cromatiche nucleari, sporozoiti nuovi, atti alla invasione di altri corpuscoli rossi.

Posso aver errato nell'interpretazione, ma non mi sembra possibile dare il significato di *corpuscoli di riduzione* a porzioni *nucleari* e *protoplasmatiche*, sbocciate in numero sì rilevante dal corpo del macrogamete.

Io mi permetto quindi di avanzare il dubbio che, in alcuni casi, anche le *gemmule* osservate e descritte da vari autori (e che realmente si debbono interpretare molte volte come corpuscoli di riduzione) fossero invece sporozoiti derivanti da una schizogonia del corpo semilunare, che in certo modo si può riunire, sotto il nome di partenogenesi, alla semplice divisione del gamete.

Due argomenti mi fanno pensare a questo modo : *a*) il primo riguarda il *numero* di questi corpiccioli emessi dal gamete, anche secondo le ripetute osservazioni di altri autori, per esempio di Bignami e Bastianelli (1). Ne sono stati veduti sino a *sette* ; — *b*) il secondo si riferisce al *momento* in cui è stata osservata la loro formazione e la fuoriuscita dal corpo sessuato. Tutte le conoscenze che noi abbiamo intorno ai *corpuscoli direttivi* dei Coccidi, e alla loro espulsione nei periodi precedenti alla fecondazione, rendono molto dubbia una simile interpretazione per coteste *gemmule*, osservate — in numero, ripeto, troppo considerevole — tanto negli stadi semilunari, quanto in quelli di ovoidi e di corpi sferici ; vale a dire che sembra troppo indeterminato il momento in cui il gamete darebbe luogo ad un fenomeno biologico legato con il processo della fecondazione. E la descrizione che Schaudinn ha dato della emissione dei *Reduktionskörper* nei gameti del *Plasmodium vivax*, mi pare che confermi interamente il valore di queste due obiezioni.

(1) Anche nel recente trattato di Marchiafava e Bignami.

La separazione degli sporozoiti partenogenetici da una metà del corpo semilunare, lascia una massa residuale (formata dall' altra metà del gamete genitore). Ora, questa porzione, costituita sempre di masse cromatiche nucleari e di protoplasma, conserva o non conserva le sue qualità morfologiche e biologiche? In altre parole, cotesta porzione residuale, nucleare e protoplasmatica, rappresenta ancora un gamete femminile (macrogamete), ovvero non rappresenta più altro che un *detritus* organico, di quelli che contribuiscono alla produzione dei fatti tossiemici, quali ci è necessario ammetterli nel decorso della infezione malarica?

Il modo con cui avviene, a quanto pare, costantemente, la divisione del gamete semilunare, non permette una esatta comparazione con il processo tanto chiaramente seguito e descritto da Schaudinn nel macrogamete del *Plasmodium vivax*. Ma Schaudinn stesso, nel commento alle sue figure da 103 a 110, della tav. VI (1), non può confondere la sorte delle due porzioni nucleari e protoplasmatiche della *Rückbildung* (*ibidem*, fig. 107), con quello che accade alla massa residuale di una diretta produzione di schizonti dal corpo del gamete (fig. 110).

È molto probabile che i due casi rappresentino due momenti distinti e due forme del processo della partenogenesi in questi Protozoi.

Ad ogni modo, io non esito a ritenere che la metà residuale del processo di partenogenesi del macrogamete della *Laverania* rimanga a rappresentare, *per un certo periodo*, la stessa funzione vitale, con la sua stessa qualità di gamete femmineo; e conservi, *durante questo periodo*, la stessa potenzialità per la riproduzione partenogenetica di altri macrogameti, e contemporaneamente, di nuovi sporozoiti schizogonici (recidive). Naturalmente, tutte quelle forme sessuali che, entro i termini di questo periodo, non fossero per avventura succhiate da una Zanzara del genere *Anopheles*, terminerebbero come forme sterili e degeneranti, e parteciperebbero in eguale misura alla produzione di quei fenomeni tossici, dei quali parlavamo poc'anzi.

Sono favorevoli a questa opinione tutti i fatti epidemiologici relativi allo scoppio dei periodi annuali delle infezioni primitive;

(1) *Loco citato*, p. 236-237.

in quanto che solo in questo modo possono gli *Anopheles* trovare i gameti nel sangue di un sufficente numero di Uomini infetti; inoltre i reperti parassitologici, i quali da una parte permettono di seguire per qualque tempo la metà del gamete, senza che la sua forma appaia alterata; e dall' altra parte mettono in relievo, in simili casi, un numero molto maggiore di gameti femminili (macrogameti) che di microgametociti (1).

C) Sarebbe molto importante determinare, con numerose ricerche, il periodo di tempo che corre fra la comparsa delle forme semilunari nel sangue periferico e le manifestazioni di una susseguente recidiva, in questo tipo di infezione estivo-autunnale. È probabile che dalla durata di questo periodo dipenda anche quel sintoma clinico di cui ho parlato innanzi, cioè la mancanza di notevole tumefazione splenica. Si consideri infatti come ricomparendo rapidamente nel sangue periferico le forme sessuate della *Laverania malariae* var. *mitis*, atte già alla riproduzione partenogenetica, debba essere conseguentemente minore il periodo di loro permanenza negli organi interni e nella milza. Ora, la reazione iperplasica del tessuto splenico è dovuta in gran parte al diretto stimolo di queste forme parasitarie, resistenti ai comuni mezzi della difesa organica.

Da ciò si deduce che le frequenti recidive di queste febbri sono in diretto rapporto con la scarsa reazione splenica, con la mancanza del sintoma clinico del tumore di milza. Le recidive partenogenetiche (*recidive vere*) nelle infezioni estivo-autunnali dovute alla var. *immitis* (febbri tropiche, etc.), sarebbero molto più rare, entro i termini del periodo annuale; mentre la maggior resistenza dei mononti, e il loro numero maggiore, darebbero ragione del più facile ripetersi di *ricadute* (recidive a corta distanza per riproduzione dei mononti residuali) e dei fatti clinici acuti (perniciosità).

(1) Questo fatto è soprattutto rilevabile all' esame immediato del sangue succhiato dagli *Anopheles*.

LA PIROPLASMOSE BOVINE.

NOUVELLES RECHERCHES ET OBSERVATIONS SUR LA MULTIPLICITÉ DES PARASITES, LEUR ÉVOLUTION, LA TRANSMISSION NATURELLE DE LA MALADIE ET LA VACCINATION (1)

PAR

J. LIGNIÈRES

Directeur de l'Institut national de Bactériologie (Buenos-Aires)

(Planche IV)

En décembre 1900, j'ai proposé le nom de piroplasmose pour toutes les affections déterminées par des Hématozoaires intra-globulaires analogues au parasite de l'hémoglobinurie du Bœuf (Babès) ou de la fièvre du Texas (Smith et Kilborne).

Les piroplasmoses bovines, ovine, équine, et canine actuellement connues sont déterminées par des parasites dont la parenté est évidente, mais qui, cependant, représentent des espèces distinctes.

Multiplicité des parasites dans la piroplasmose bovine.

Bien mieux, dans la piroplasmose bovine on constate plusieurs variétés de parasites.

Dès mes premières recherches, en 1898, j'avais distingué dans la République Argentine deux formes de piroplasmose bovine (Tristeza), une forme typique et une forme atypique. En 1900, dans un premier essai d'étude comparée des piroplasmoses bovines rencontrées dans les différents pays, je faisais remarquer l'existence de types différents et démontrais expérimentalement que les animaux vaccinés contre la maladie que j'avais trouvée en France ne l'étaient pas contre un des parasites de la République Argentine (2).

(1) Communication faite au Congrès international de médecine. *Journal de médecine de Madrid*, avril 1903.

(2) *Bulletin de la Société de médecine vétérinaire*, décembre 1900.

Cette question de la pluralité des parasites dans les piroplasmoses bovines (1) est de la plus haute importance dans la pratique de la vaccination ; aussi ai-je apporté tous mes efforts à son éclaircissement. Le 1er juin 1901, j'ai publié dans le *Boletin de Agricultura y Ganaderia*, puis plus tard dans le *Recueil de médecine vétérinaire*, le résultat de recherches expérimentales qui prouvent de la façon la plus évidente l'existence de plusieurs variétés de parasites dans la piroplasmose bovine argentine. Ainsi, j'ai isolé par inoculations successives un parasite *A* qui, après 5 à 7 jours d'incubation, détermine régulièrement la maladie avec hyperthermie, urine rouge, nombreux *Piroplasma* fusiformes et bigéminés dans les globules, visibles dès le début du mal (fig. 1). L'évolution de cette forme est de 5 à 8 jours. Elle détermine une anémie pernicieuse extrêmement grave et rapide et la mort dans la moitié des cas environ. La guérison, lorsqu'elle se produit, est suivie d'une convalescence assez courte, elle laisse l'organisme parfaitement réfractaire contre l'inoculation du même type de parasite.

Au contraire, une autre variété de *Piroplasma C* obtenue à la suite d'inoculations faites à des animaux vaccinés contre la forme *A*, montre des qualités nettement distinctes : la période d'incubation est toujours plus longue (8 à 12 jours) et la durée de la maladie, dont la marche peut être insidieuse, est également beaucoup plus longue, elle dure jusqu'à trois semaines et plus. L'hyperthermie est toujours très élevée, mais l'apparition de l'hémoglobinurie est tout à fait rare et, quand elle se produit, c'est seulement à l'approche de la mort. A aucun moment on ne constate une anémie pernicieuse rapide et importante. L'examen du sang est souvent négatif ou montre quelques très rares parasites remarquablement petits et le plus souvent sphériques (fig. 2). La mort se produit dans les huit dixièmes des cas environ et lorsque les malades guérissent, ils ne se rétablissent que très lentement (2). L'immunité suit aussi une première atteinte mais les rechutes ne sont pas rares.

Si maintenant nous comparons l'immunité dans les deux cas, nous voyons que les animaux vaccinés contre la seconde forme *C* le sont également contre la première, mais les animaux immuni-

(1) Il est bien probable qu'il en est de même pour les autres piroplasmoses.

(2) Il n'est pas question ici de formes avortées.

nisés contre celle-ci puis inoculés avec la seconde forme *C* prennent très bien la maladie et peuvent en mourir. De même, quand on inocule en même temps les deux formes, la forme *A* évolue d'abord et, si l'animal n'en meurt pas, la forme *C* évolue à son tour d'une façon bien distincte ; dans ce cas, elle est presque toujours mortelle.

Les caractères différentiels que je viens de signaler sont constants ; en effet, depuis plus de deux ans que j'inocule régulièrement les formes *A* et *C*, je les ai vu conserver leurs caractères distincts. Par là, nous avons encore la preuve qu'il ne s'agit pas seulement d'une question de virulence.

Tout dernièrement, j'ai eu le plaisir de voir aussi constater ailleurs l'existence de variétés bien différentes de piroplasmose bovine. Dans une lettre, datée du 24 janvier 1903, et accompagnée de nombreuses préparations microscopiques, M. Theiler, le réputé vétérinaire en chef du Transvaal, m'apprend qu'il distingue dans ce pays, deux espèces de piroplasmose bovine (Redwater), celles-ci se présentent constamment sous des caractères différents. La Redwater ordinaire du Transvaal est déterminée par un *Piroplasma bigeminum* classique et produit une affection du même type que notre exemple *A*. L'autre, qui vient de la côte Est et a déjà ravagé le bétail de la Rodhésia (d'où le nom de Rodhesian Redwater), a été rencontrée par Koch en 1898, et fut plus tard étudiée par Ch. Gray et W. Robertson 1902 ; elle atteint maintenant le Transvaal. Cette piroplasmose est produite par des parasites tout à fait distincts (fig. 3) qui tuent parfaitement les animaux vaccinés contre la Redwater ordinaire. Cette Rhodesian Redwater est encore différente de notre forme *C*.

Évolution.

Dans mon premier travail sur la piroplasmose bovine, ainsi qu'au Congrès international de médecine, à Paris, j'ai soutenu que le *Piroplasma bigeminum* avait une évolution complètement distincte de celles qui avaient été indiquées jusque là. Les figures 5 et 6 rappellent ce que je défendais alors. Dans la fig. 5, nous voyons la forme en poire typique prendre la forme ronde, dans laquelle le point chromatique (karyosome pour les uns, noyau ou nucléole pour d'autres) se multiplie par division, soit dans le parasite lui-même, soit en dehors, de façon à former ce que j'appelle des

corpuscules germes. Cette évolution est lente, on la voit se produire surtout dans le sang conservé et notamment dans le sang que contient l'estomac de la Tique. Ces corpuscules germes sont aussi pour moi des formes de résistance. La fig. 6 nous montre une évolution rapide obtenue exceptionnellement dans du sérum hémoglobinémique placé à l'étuve à 37° ; c'est une véritable culture dans laquelle le corpuscule germe se divise et se développe pour donner très vite de nouveaux Hématozoaires ronds, tandis que le protoplasma du parasite mère se détruit.

Si cette manière d'interpréter les faits était juste, je devais retrouver dans l'organisme infecté, des preuves de cette évolution et de la qualité des corpuscules germes. C'est, en effet, ce qui s'est produit. Dans le sang, surtout celui qui est resté dans les vaisseaux quelque temps après la mort ou qui a été conservé 2 ou 3 jours à la glacière, on colore par la méthode de Laveran ou de Romanovsky un protoplasma plus ou moins riche en corpuscules germes (fig. 4). On trouve aussi de ces germes en dehors des globules : ils sont constitués par des corpuscules très petits complètement colorés comme la chromatine. Ces corpuscules se multiplient très nettement par allongement et division directe. C'est bien la formation des corpuscules germes que nous figurions (fig. 5).

Mais on peut voir évoluer plus avant les corpuscules germes dans l'organisme même, comme nous l'avons fait fidèlement reproduire fig. 7, laquelle représente une préparation de rein dans la forme *C* atypique. On y voit des piroplasma intraglobulaires, mais la plupart sont libres et plus ou moins ronds. Dans le protoplasma de ces Hématozoaires, les corpuscules germes se multiplient d'habitude par deux ; cependant il en est où on en compte 3 ou 5. S'il y en a 4, par exemple, deux sont pleins et colorés d'une façon uniforme, tandis que les deux autres ont une zone claire centrale.

Je ne saurais affirmer d'une façon absolument sûre si ces deux variétés de corpuscules ont des qualités tout-à-fait identiques ; mais toutes mes observations semblent bien m'indiquer que les éléments pourvus d'une zone claire représentent la première évolution du corpuscule germe vers le jeune Hématozoaire rond. Au contraire, le corpuscule germe plein et fortement coloré continue à se multiplier par scissiparité ; c'est la véritable forme de multi-

plication, et, pourrait-on dire aussi, une phase bactérienne du *Piroplasma*.

Cette formation endogène des jeunes Hématozoaires du *Piroplasma bigeminum* est un fait bien positif ; par contre, jamais il ne se produit de division du protoplasma de l'Hématozoaire mère ou primitif. Ce protoplasma se détruit purement et simplement. Si les petites formes rondes qu'on rencontre dans les organes, notamment dans la rate, se divisent bien par scissiparité, c'est qu'elles ne sont en réalité que du protoplasma ayant conservé encore les qualités des corpuscules germes.

Pour moi, l'infection des globules, qui a lieu surtout dans les organes ou les tissus (1), se fait par les corpuscules germes. Ceux-ci peuvent, après leur introduction dans les globules, continuer leur division commencée ou ébauchée et donner ainsi en se développant ensuite l'aspect bigéminé. En effet, on rencontre parfois dans des globules et même dans le sang de la grande circulation, de ces corpuscules uniques ou doubles qu'on ne peut reconnaître comme Hématozoaires qu'après avoir acquis une certaine expérience.

Par contre, dans la Rhodesian Redwater du Sud de l'Afrique, les globules de la jugulaire sont régulièrement infectés par de nombreux corpuscules germes qui prennent souvent l'aspect bacillaire (fig. 3). A côté de formes rondes ou même piriformes typiques, mais plutôt rares, on trouve de nombreux corpuscules germes qui se divisent par scissiparité. Ce sont ces corpuscules que R. Koch a signalés le premier, justement dans l'Afrique du Sud, et qu'il regardait alors comme pouvant constituer la forme jeune du parasite. Aujourd'hui, après examen des préparations, je puis confirmer pleinement cette hypothèse, tout en trouvant dans cette variété de piroplasmose bovine, non seulement une nouvelle preuve de l'existence des corpuscules germes et de leur multiplication par division, mais encore leur propriété d'infecter les globules sous cette forme, avec tendance à la conserver, au lieu de prendre rapidement la forme ronde ou piriforme normale. Il est important de noter aussi qu'on trouve dans les préparations de cette Redwater tous les intermédiaires entre les corpuscules germes et les formes typiques normales.

(1) La forme *C* nous en a fourni une preuve absolue.

Si l'on veut encore des preuves concernant la nature des corpuscules germes, ou peut les trouver dans l'examen même du sang infecté de la forme *A*, au début de la grande poussée d'invasion des globules par les *Piroplasma*. Dans la fig. 8, colorée au Laveran, j'ai fait dessiner des formes normales *a*, *b*, *c*, *d*, et des formes plus ou moins rondes, *e*, *f*, *g* et *h*, avec leurs corpuscules germes. Les figures *i* à *n* montrent des Hématozoaires dans lesquels les corpuscules ont germé avant la complète évolution du parasite primitif. Il ne s'agit pas de prolongements protoplasmiques, mais bien de jeunes *Piroplasma* complets avec leur substance chromatique destinée à donner plus tard les corpuscules germes.

Je n'ai pas besoin d'insister sur l'importance de cette détermination du rôle de la substance chromatique des *Piroplasma* : on voit qu'elle est tout autre que ce qu'on croyait jusqu'ici.

Transmission naturelle de la piroplasmose bovine.

Variétés dans le pouvoir infectant de la Tique. — Nous connaissons, depuis Smith et Kilborne, le rôle des Ixodes ou Tiques dans la transmission des piroplasmoses. Mais, puisque les Tiques ne sont que des intermédiaires entre les *Piroplasma* et les Bovidés, j'ai voulu voir si on rencontre, même dans les milieux infectés, des Tiques indemnes. J'ai déjà signalé antérieurement la possibilité de trouver des Tiques infectées sur des animaux sains en apparence ; on ne peut donc pas se fier absolument à l'état de santé apparent des Bovidés pour en déduire si les Tiques qu'ils hébergent sont ou non infectées. Par contre, en recueillant dans les mêmes conditions des Tiques pour les faire pondre et en obtenir les larves, on constate assez fréquemment que celles-ci sont indemnes de *Piroplasma*. En effet, elles peuvent impunément vivre et se développer complètement sur des Bovidés sensibles sans les infecter et, quand après deux ou trois mois, ces animaux sont éprouvés soit par des Tiques infectées, soit par une simple inoculation sous-cutanée de sang virulent, ils prennent la maladie comme les témoins. Mais ces mêmes Tiques inoffensives s'infectent et transmettent cette infection à leurs larves dès qu'elles se sont développées sur un animal atteint de Piroplasmose.

Non seulement les Tiques sont parfois infectantes, mais leur

degré d'infection peut aussi être extrêmement variable. Souvent, la même espèce de Tiques inocule seulement une variété de *Piroplasma* qui peut être plus ou moins redoutable (forme *A*, forme *C* ou forme *X*) ; ou bien encore, comme je l'ai constaté, elles inoculent ***en même temps*** plusieurs de ces variétés. Ce sont évidemment les cas les plus graves.

Ces variations dans la qualité de l'infection des Tiques étaient restées inconnues jusqu'ici ; elles nous expliquent bien pourquoi les animaux qui vivent en bonne santé, dans une localité infectée, peuvent être malades et mourir de piroplasmose, lorsqu'on les amène dans d'autres champs éloignés, également infectés et où ils trouvent une autre variété de *Piroplasma*. On voit aussi comment l'envahissement brusque d'une région par un nouveau *Piroplasma* (1) peut produire de véritables épidémies très meurtrières sur un bétail qui n'avait eu affaire jusque là qu'à une forme de *Piroplasma*.

Je veux signaler maintenant un fait évidemment rare, puisque je l'ai constaté trois fois seulement en quatre ans, à savoir la possibilité de la transmission naturelle de la piroplasmose bovine par un intermédiaire autre que la Tique. Je ne peux pas indiquer aujourd'hui quel est cet intermédiaire, mais j'ai constaté dans mon hôpital et dans des conditions de certitude absolue, l'infection de Bovidés provenant de localités indemnes de piroplasmose, qui n'avaient reçu ni inoculation ni Tiques. Si celles-ci avaient pu échapper à mon examen et à celui de mes assistants au moment de l'apparition du mal, elles ne pouvaient passer inaperçues plus tard au moment de leur maturité. Or, à aucun moment, les examens les plus minutieux n'ont pu faire découvrir même la trace de Tiques.

On peut admettre que parfois et d'une façon tout exceptionnelle, les Stomoxes par exemple, qui vont des animaux malades sur les animaux sains, peuvent inoculer la maladie ; cependant, comme je l'ai expliqué ailleurs (2), cette hypothèse me paraît peu probable. D'autre part, j'ai constaté ces faits anormaux de contagion à des époques coïncidant assez bien avec l'apparition de gros Moustiques que je me propose d'étudier à la première occasion. Il n'est pas

(1) Introduction d'animaux venant d'une autre région infectée.

(2) Contribution à l'étude de la Trypanosomose des Équidés sud-Américains. *Revista de la Sociedad medica Argentina*, Buenos-Aires, X, p. 481, 1902.

sans intérêt de dire qu'en même temps et dans le même hôpital, j'ai aussi constaté la transmission naturelle du Nagana à un Cheval indemne de cette affection.

VACCINATION.

Dans la mise en pratique de toute nouvelle méthode d'immunisation, les résultats peuvent être compromis par une foule d'obstacles souvent impossibles à prévoir. C'est pourquoi il me paraît toujours plus sage de ne donner le détail d'une nouvelle méthode que lorsque celle-ci a fait ses preuves dans l'application. Je me félicite particulièrement aujourd'hui de ma réserve lors de ma première communication, car, dans le cas contraire, une grande partie des expérimentateurs se seraient heurtés aux obstacles que j'ai moi-même rencontrés, et cela au détriment de la méthode elle-même qui, cependant, reste excellente. Je ne me départirai pas de cette prudence et seulement lorsque l'application pratique de ma vaccination aura fait partout ses preuves, je me croirai en droit de publier en détail mon mode d'atténuation. Toutefois, en attendant, il me semble intéressant d'indiquer les étapes successivement parcourues.

Le premier obstacle auquel je me suis heurté a été justement causé par l'existence des variétés de *Piroplasma* chez les Bovidés. Pour surmonter cette difficulté, j'ai fait des vaccins polyvalents contenant le plus grand nombre possible de variétés de *Piroplasma*. Pour les animaux ordinaires, je fais des injections à 10 jours d'intervalle; l'une d'elles est faite dans la veine et l'autre sous la peau. Les animaux plus fins et beaucoup plus sensibles reçoivent trois injections dont deux sous la peau, de virulence progressive. Cette modification du vaccin a amélioré et généralisé considérablement son efficacité; mais j'ai rencontré de nouvelles difficultés. Par exemple, j'ai constaté qu'il était absolument important d'attendre au moins un mois après la dernière injection, avant d'envoyer les vaccinés dans les régions infectées. C'est qu'en effet, nous avons affaire à des parasites différents des Bactéries, qui évoluent parfois très tardivement ou qui récidivent quelquefois, de sorte que l'immunité ne s'établit pas toujours avec rapidité.

De même, il faut éviter avec le plus grand soin d'envoyer les

animaux vaccinés dans les zones infectées, pendant les fortes chaleurs. En effet, dans ce cas, la température élevée déprime l'organisme en agissant sur lui à la façon de la peste bovine (Nicolle et Adyl-Bey) ou d'autres microbes (Lignières), pour réveiller l'infection piroplasmique latente et déterminer une nouvelle attaque, toujours grave dans les conditions de milieu où se trouvent placés les animaux récemment vaccinés. Ceux-ci, surtout quand ils sont de race fine, doivent être envoyés dans les champs contaminés en automne ou mieux encore en hiver, de façon que leur acclimatement puisse se faire sans difficultés.

Enfin, il faut bien savoir que les vaccins, à moins d'être polyvalents, peuvent être aussi variés que l'on rencontre de formes différentes de piroplasmose ; je dis peuvent, parce que souvent aussi la forme la plus forte vaccine contre la plus faible. En tout cas, on ne peut affirmer à l'avance que l'immunité acquise avec le parasite rencontré dans une région ou dans un pays, sera valable pour une autre localité ou un autre pays ; l'expérience seule peut le démontrer. En cas d'échec, on a toujours la ressource de faire du vaccin avec le virus même de la localité où on veut l'appliquer.

Aujourd'hui, la vaccination est sans danger ; elle permet d'immuniser pour plus d'une année les reproducteurs les plus purs. D'ailleurs, nous avons la pratique de plusieurs centaines de ces vaccinations sur des animaux dont la valeur atteignait dix, quinze et jusqu'à vingt mille francs. Voilà où nous en sommes maintenant. Si les résultats obtenus pour certaines contrées sont si favorables que la question paraît être résolue, il me reste cependant à vérifier l'efficacité de ma méthode dans le plus grand nombre possible de pays où sévit la piroplasmose bovine. Cette dernière et si importante phase est déjà entrée dans la voie de l'exécution.

APPENDICE

D'après les observations contenues dans une nouvelle lettre que m'adresse M. Theiler, il me paraît certain que la Rhodesian Redwater n'est pas une Piroplasmose pure et que sa gravité est

due surtout aux Spirilles découverts justement par M. Theiler dans le sang des mêmes Bovidés.

Quelle part joue le *Piroplasma* dans la Rhodesian Redwater ? C'est ce que des recherches ultérieures nous démontreront.

En attendant, et alors même que cette affection devrait toute sa gravité à la spirillose, nous n'en devons pas moins retenir comme exactes les formes bacillaires intra-globulaires du *Piroplasma*. Ces formes peuvent se produire anormalement dans l'organisme des Bœufs affectés de spirillose ; ou bien, représenter réellement une variété distincte de *Piroplasma*.

Quant à la transmission des Spirilles, elle me paraît se faire, comme celle des *Piroplasma*, par des Tiques. Nous savons, en effet, que Marchoux et Simond, au Brésil, ont trouvé chez la Poule une affection mortelle déterminée par des Spirilles qui se transmettent aux Oiseaux par la piqûre des Argas.

EXPLICATION DE LA PLANCHE IV

(Coloration par la méthode de Laveran).

Piroplasmose bovine

Fig. 1. — Piroplasmose, forme A (typique).

Fig. 2. — Piroplasmose, forme C (atypique).

Fig. 3. — Piroplasmose, forme bacillaire (*Rhodesian Redwater*).

Fig. 4. — Évolution du *Piroplasma bigeminum* dans le sang de l'estomac des Tiques.

Fig. 5. — Évolution exceptionnelle du *Piroplasma bigeminum* dans le sérum hémoglobinémique placé à 37°.

Fig. 6. — Évolution du *Piroplasma bigeminum* dans le sang resté quelques heures dans les vaisseaux du cadavre ou conservé 2 à 3 jours à la glacière.

Fig. 7. — Évolution intra et extra-globulaire du *Piroplasma bigeminum* dans le rein.

Fig. 8. — *a-d*, formes normales ; *e-h*, formes plus ou moins rondes ; *i-n*, Hématozoaires dans lesquels les corpuscules ont germé à l'intérieur du parasite primitif.

PRIMO CONTRIBUTO ALLO STUDIO

DELLA FAUNA ELMINTOLOGICA DEI PESCI

DELLA SICILIA ORIENTALE (1)

DEI DOTTORI

PIETRO BARBAGALLO e UMBERTO DRAGO (2)

Il presente lavoro ha per iscopo di contribuire a colmare una lacuna, che lo studio dell'Elmintologia purtroppo lamenta, poichè, sebbene il classico lavoro del Linstow (3) sia abbastanza ricco di specie parassite, e si rivolga sopra un numero piuttosto significante di specie ospitanti, tuttavia esso è d'indole generale e non tiene conto della località delle Faune, oltre a che presenta delle lacune, per quanto si riferisce a certe specie di Pesci e di Elminti da essi ospitati, che non si trovano nell' elenco. La classificazione, poi, e la nomenclatura alquanto in disuso rendono indispensabile un continuo lavoro di consultazione di altre monografie più moderne.

Con l'intendimento di facilitare le ricerche agli studiosi dell'argomento e di far conoscere la Fauna elmintologica dei Pesci della Sicilia orientale, noi, sulle orme di quanto ha fatto lo Stossich (4) per il compartimento di Trieste, abbiamo accuratamente ricercato sui Pesci portati al mercato, o direttamente offerti a questo Isti-

(1) Istituto zoologico della R Università di Catania, diretto dal Prof. A. RUSSO.

(2) Nell'eseguire le presenti ricerche, il nostro lavoro è stato distribuito in modo, che potesse risultare distinta quella parte con cui ognuno vi ha partecipato.

Così il Dr Pietro BARBAGALLO ha eseguite le ricerche sulle seguenti famiglie di Pesci : *Mustelidae, Rhynobatidae, Torpedidae, Rajidae, Clupeidae, Anguillidae, Gadidae, Exocœtidae, Mullidae, Scombridae, Sparidae, Trichiuridae, Mænidae, Mugilidae, Sphyrænidae.*

Il Dr Umberto DRAGO, da parte sua, ha rivolte le ricerche sulle famiglie : *Petromyzontidae, Spinacidae, Squatinidae, Myliobatidae, Trigonidae, Cyprinidae, Scopelidae, Pleuronectidae, Labridae, Orthagoriscidae, Lophiidae, Gobiidae, Triglidae, Percidae, Sciænidae.*

(3) O. LINSTOW, *Compendium der Helminthologie.* Hannover, 1878-1889.

(4) M. STOSSICH, *Saggio di una fauna elmintologica di Trieste e provincie contermini.* Trieste, 1898.

tuto, avendo cura di ripetere parecchie volte l'esame di una specie, valendoci di diversi individui successivamente, come ancora in epoche diverse.

Nella diagnosi delle specie parassite ci sono stati di guida, oltre i lavori del Linstow e dello Stossich, molte monografie che sarebbe lungo enumerare : nell' identificazione della specie dei Pesci, ci siamo uniformati al trattato del Carus (1) e al lavoro del Tuttolomondo (2).

ORDO TREMATODA

1. *Podocotyle contortum* Rudolphi. — In varî esemplari aderenti alle branchie, al palato e all' intestino dell' *Orthagoriscus mola*. Catania, aprile, maggio 1902.

2. *Podocotyle macrocotyle* Diesing. — In alcuni esemplari aderenti all' ultima porzione dell' intestino dell' *Orthagoriscus mola*. Catania, novembre 1902.

3. *Podocotyle fractum* Rudolphi. — In varî esemplari poco aderenti nell' intestino del *Box salpa*. Catania, maggio 1902.

4. *Podorotyle pedicellatum* Stossich. — Rarissimo nell' intestino del *Chysophrys aurata*. Catania, aprile 1902.

5. *Podocotyle furcatum* Bremser. — Oltremodo raro nell' ultima porzione dell' intestino del *Mullus surmuletus*. Raro nell' ultima porzione dell' intestino del *Solea vulgaris*. Catania, agosto 1902.

6. *Podocotyle pachysomum* Eisenh. — Poco comune nell' intestino del *Mugil cephalus*. Catania, Lago di Lentini, maggio 1902.

7. *Podocotyle retroflexum* Molin. — Rarissimo in mezzo al muco della porzione anteriore dell' intestino del *Belone acus* e dello *Exocœtus volitans*. Catania, Aci-Trezza, agosto, settembre 1902.

8. *Apoblema appendiculatum* Rudolphi. — In varî esemplari nel ventricolo e nell' intestino del *Lophius piscatorius*, dello *Scomber scomber*, dello *Scomber colias*. Oltremodo raro nel ventricolo della *Lichia amia*. Catania, Augusta, maggio, novembre 1902.

9. *Apoblema rufoviride* Rudolphi. — Qualche esemplare nello stomaco dell' *Anguilla vulgaris* e del *Conger vulgaris*. Lago di Lentini, Catania, maggio, novembre 1902.

(1) J.-V. Carus, *Prodromus faunae mediterraneae*. Stuttgart, 1889-1893 : cf. II.

(2) A. Tuttolomondo, *Fauna ittiologica del compartimento marittimo di Catania*. Girgenti, 1901.

10. *Apoblema Stossichi* Monticelli. — Estremamente raro nel muco dell' esofago e dello stomaco dell' *Alosa sardina*. Catania, giugno 1902.

11. *Distoma* (*Brachycæcum*) *Brusinai* Stossich. — Oltremodo raro nella cloaca dell' *Oblata melanura*. Catania, maggio 1902.

12 *Distoma* (*Brachylaimus*) *mormyri* Stossich. — Raro nello intestino del *Pagellus mormyrus*. Catania, agosto 1902.

13. *Distoma* (*Brachylaimus*) *umbrinae* Stossich.— Rarissimo nello intestino dell' *Umbrina cirrhosa*. Catania, agosto 1902.

14. *Distoma* (*Brachylaimus*) *ascidia* Rudolphi. — In rari esemplari nell' intestino del *Box boops* e del *Pagrus vulgaris*. Catania, maggio, agosto 1902.

15. *Distoma* (*Dicrocœlium*) *pulchellum* Rudolphi. — Poco frequente nell' intestino del *Gobius jozo*. Catania, novembre 1902.

16. *Distoma* (*Dicrocœlium*) *labracis* Dujardin. — In rarissimi esemplari nell' intestino del *Labrax lupus*. Catania, Augusta, maggio 1902.

17. *Distoma* (*Dicrocœlium*) *micracanthum* Stossich. — Oltremodo raro nell' intestino del *Pagellus erythrinus*. Catania, luglio 1902.

18. *Distoma* (*Dicrocœlium*) *scorpænae* Rudolphi. — In rarissimi esemplari nel muco dell' intestino della *Scorpæna lutea*. Catania, Ognina, Aci-Trezza, luglio 1902.

19. *Distoma* (*Dicrocœlium*) *fasciatum* Rudolphi. — Molto raro nell' intestino retto del *Crenilabrus cæruleus* e del *Serranus scriba*. Catania, luglio, agosto 1902.

20. *Distoma* (*Dicrocœlium*) *bacillare* Molin. — Poco frequente nell' intestino dello *Scomber scombrus*. Catania, maggio 1902.

21. *Distoma clavatum* Rudolphi. — In rarissimi esemplari nel ventricolo del *Pelamys sarda*. Catania, giugno 1902.

22. *Distoma* sp. — Una sola volta osservato ed in unico esemplare nello stomaco del *Julis pavo*. Catania, giugno 1902.

23. *Distoma* sp. — In rarissimi esemplari nel ventricolo del *Trachurus trachurus*. Catania, giugno 1902.

24. *Distoma* sp. — Rarissimo, incistato nel cuore del *Mugil cephalus*. Catania, maggio 1900.

25. *Echinostoma nigroflavum* Rudolphi. — In alcuni esemplari nel ventricolo dell' *Orthagoriscus mola*. Catania, novembre 1902.

26. *Echinostoma perlatum* Rudolphi. — In numerosi esemplari

nel muco dello stomaco e dell' intestino della *Tinca vulgaris*. — È da osservare che quando è nello stomaco talvolta trovasi agamo, mentre sempre è a completo sviluppo nell' intestino. Pantani della Piana di Catania, Lago di Lentini, guigno 1900, 1902.

27. *Echinostoma cesticillus* Molin. — In diversi esemplari nel muco dell' intestino della *Torpedo ocellata*, dell' *Umbrina cirrhosa* e della *Seriola Dumerili*. Catania, maggio 1900, agosto 1902.

28. *Echinostoma lydiae* Stossich. — In discreto numero di esemplari nel muco intestinale dell' *Orthagoriscus mola*. Catania, maggio 1902.

29. *Agamodistoma valdeinflatum* Stossich. — Qualche esemplare sparso qua e là e racchiuso in cisti sferiche e trasparenti nella cavità peritoneale del *Gobius jozo*. Catania, novembre 1902.

30. *Didymozoon thynni* Taschenberg. — Negli archi branchiali e nel palato del *Thynnus vulgaris* talvolta e in numero esiguo rinvengonsi delle piccole sporgenze, le quali incise attentamente lasciano venir fuori delle cisti della grossezza ed apparenza di un piccolo pisello. Al posto di dette sporgenze si può osservare anche l'impronta rimasta. Tali cisti sono di un colorito giallo, simile a quello dell' oro antico. Pungendo e comprimendo accuratamente tali cisti vengon fuori due piccoli elminti, similmente uguali fra loro. Son costituiti da due parti : una posteriore ingrossata, ed una anteriore assottigliata a mó di filo. I due elminti stanno a contatto fra loro entro la cisti per mezzo della parte posteriore. Tonnara di S[a] Panagia (Siracusa) maggio 1902.

31. *Didymozoon sphyrænae* Taschenberg. — In rare cisti aderenti alla mucosa boccale della *Sphyræna vulgaris*. Catania, giugno 1902.

32. *Monostoma orbiculare* Rudolphi. — Qualche raro esemplare nell' intestino del *Box salpa* e dell' *Oblata melanura*. Catania, aprile, giugno 1902.

33. *Monostoma capitellatum* Rudolphi. — Oltremodo raro nello intestino del *Box salpa*. Catania, aprile 1902.

34. *Monostoma spinosissimum* Stossich. — Rarissimo nell' intestino del *Box salpa*. Catania, maggio 1902.

ORDO CESTODES

35. *Tænia (Mesocestoides) macrocephala* Creplin. — In qualche

raro esemplare aderente alla mucosa dell' intestino dell' *Anguilla vulgaris*. L'adesione era talmente forte, che le proglottidi facilmente si spezzettavano alla più debole trazione. Tanto lo scolice, quanto le proglottidi erano grandemente cosparsi di corpuscoli calcarei. Lago di Lentini, Pantani della Piana di Catania, aprile 1902.

36. *Diplogonoporus Wageneri* Monticelli. — Poco frequente e sempre aderente alla mucosa intestinale del *Centrolophus pompilus*. Catania, maggio 1902.

37. *Anchistrocephalus microcephalus* Rudolphi. — Qualche esemplare nell' intestino dell' *Orthagoriscus mola*. Catania, nov. 1902.

38. *Bothriocephalus crassiceps* Rudolphi. — Rarissimo nell' intestino del *Merlucius vulgaris*. Augusta, Catania, aprile 1902.

39. *Bothriocephalus belones* Dujardin. — Abbastanza raro nello intestino del *Belone acus*. Catania, settembre 1902.

40. *Bothriotænia plicata* Rudolphi. — Frequentemente e in discreto numero di esemplari, con l'estremità anteriore infissa nei caratteristici cunicoli scavati nell' intestino retto dello *Xiphias gladius*. Qualche individuo perfora la parete dell' intestino sino alla tunica sierosa, la quale si solleva in forma di cisti, ove passa lo scolice e gran parte del corpo. Qualche altro individuo perfora addirittura anche lo strato peritoneale dell' intestino e sporge libero nella cavità peritoneale, ovvero si fa strada fra le anse intestinali e fra le pieghe peritoneali. Messina, maggio, giugno 1902.

41. *Ligula simplicissima* Rudolphi. — In discreto numero di esemplari e con una certa frequenza nella cavità peritoneale della *Tinca vulgaris*.

In tali Tinche il ventre e i fianchi si presentavano alquanto dilatati e talvolta di un colorito un pò più chiaro dell' ordinario, cosicché, acquistando una certa pratica, si riusciva facilmente a constatarne la presenza anche prima di aprire la cavità peritoneale. In alcune di esse, inoltre, un pò più al di sopra dell' apertura anale, si notava una leggiera prominenza alquanto molle, sotto la quale palpavasi benissimo l'elminto, in altre, invece, tale prominenza era aperta e da essa vedevasi fuoriuscire un pezzetto del parassita in discorso, oltre ad un pò di muco misto a pus gialliccio.

Il numero delle Ligule per ogni ospite variava da 1 a 6. La loro lunghezza era da 8 a 25 cm.; la larghezza da 5 a 12 mm.

Facendo con un coltello ben tagliente delle sezioni trasversali

di tali Tinche, da uno sguardo sommario si rilevó che i parassiti si frammettevano fra i varî organi addominali, accerchiandoli nelle loro volute e perforandone il mesentere.

Circa alle alterazioni che la Tinca subisce per la presenza di tali Ligule, sempre riferendosi ai tagli suddetti, si può dire che il fegato é più o meno compresso, talvolta anche fortemente, i testicoli sono atrofici, come anche gli ovarî, la vescica natatoria spostata in basso leggermente in alcune; in altre, invece, grandemente, subendo anche un certo grado di schiacciamento. Presentano pure uno spostamento leggermente in basso e una leggiera compressione dello stomaco e dell'intestino. È da aggiungere, che talvolta dalla cavità addominale tali Ligule riescono a penetrare nei muscoli della parete circostante, scavandovi una specie di doccia.

Da quanto si è detto si può dedurre che gli organi maggiormente interessati sono gli ovarî e i testicoli. Si è, adunque, dinanzi ad una vera castrazione parassitaria della Tinca dovuta alle Ligule, simile a quella che constatarono C. Parona e F. Mazza nelle Aterine (1). Tale castrazione è pure temporanea, perché accurate ricerche fatte in altre epoche dell'anno hanno avuto risultato negativo.

Oltre a ció è a da notarsi che da varî anni a dir dei pescatori, le Tinche diminuiscono grado a grado, il che, forse, può stare in rapporto a questa castrazione parassitaria.

Lago di Lentini, Pantani della Piana di Catania, aprile, maggio 1902.

42. *Anthobothrium musteli* Van Beneden. — Raro nell' intestino del *Mustelus vulgaris*. Catania, maggio 1900, giugno 1902.

43. *Phyllobothrium thridax* Van Beneden. — Rarissimo e poco aderente nella valvola intestinale della *Squatina angelus*. Catania, aprile 1902.

44. *Phyllobothrium lactuca* Van Beneden. — In rarissimi esemplari nell' intestino del *Mustelus vulgaris*. Catania, giugno 1900; aprile 1902.

45. *Phyllobothrium gracile* Wedl. — Qualche raro esemplare poco aderente nell' intestino del *Rhynobatus columnae* e nella val-

(1) Sulla castrazione temporanea delle Aterine dovuta ad elmintiasi. *Boll. dei Musei di Zool. e Anat. comp. d. R. Univ. di Genova*, n° 97, 1900.

vola intestinale della *Torpedo marmorata*. Catania, dicembre, aprile 1902.

46. *Echeneibothrium myliobatis aquilae* Wedl. — Raro nell' intestino del *Myliobatis aquila*. Catania, dicembre 1902.

47. *Echeneibothrium minimum* Van Beneden. — Qualche raro esemplare poco aderente nella valvola spirale del *Trigon pastinaca*. Catania, aprile 1902.

48. *Echeneibothrium variabile* Van Beneden. — Rarissimo nell' intestino della *Raja clavata*. Catania, aprile 1902.

49. *Calliobothrium coronatum* Rudolphi. — Qualche raro esemplare nell' intestino del *Mustelus vulgaris*. Catania, Augusta, Siracusa, aprile, maggio 1902.

50. *Calliobothrium filicolle* Zschokke. — Comune nella valvola spirale del *Mustelus vulgaris*, del *Torpedo ocellata*, del *Raja clavata*, del *Myliobatis aquila*. Catania, maggio, giugno 1900-1902.

51. *Rhynchobothrium corollatum* Rudolphi. — Raro nella valvola intestinale dell' *Acanthias vulgaris*. Catania, aprile 1902.

52. *Rhynchobothrium paleaceum* Rudolphi. — Qualche rara volta ed in esiguo numero incistato fra i muscoli branchiali e sotto il cuore del *Mullus barbatus*. Catania, Aci-Trezza, agosto 1902.

53. *Rhynchobothrium gracile* Wagener. — Oltremodo frequente ed in numerosissimi esemplari nel fegato dell' *Orthagoriscus mola*. — In tali casi il fegato acquista un aspetto *sui generis*. La superficie, ricoperta dalla glissoniana, ha un colorito marrone-chiaro e presentasi tempestata da rilievi aventi un aspetto di bolle. Tale glissoniana è poco aderente al tessuto epatico sottostante, in modo da potersi quasi sollevare. Togliendola, grossolanamente come si può, comparisce una quantità veramente stragrande di corpicciuoli rotondeggianti grossi quanto un grosso cece o poco più, ed infossati nel tessuto epatico sottostante. Ognuno di questi corpicciuoli ha come appendice un cordoncino vermiforme incuneato nel tessuto sottostante, il quale va diritto per un piccolo tratto, poi fa delle curve in certo qual modo sinuose, per finire poi ad un tratto a conficcarsi nel parenchima epatico. Facendo con un bisturi un taglio del fegato, si osserva che esso è tutto finamente tramezzato da tali corpicciuoli con le relative appendici. Catania, aprile, maggio, novembre 1902.

54. *Rhynchobothrium smaridum* Pintner. — In pochi esemplari

e con una certa frequenza nella cavità peritoneale della *Mæna vulgaris*, e della *Mæna Osbecki*. Catania, agosto, novembre 1902.

55. *Tetrarhynchus tetrabothrium* Van Beneden. — Qualche raro esemplare nell' intestino del *Mustelus vulgaris*. Rarissimo, allo stato larvale, nel ventricolo del *Pelamys sarda*. Catania, giugno 1900, aprile-giugno 1902.

56. *Tetrarhynchus erinaceus* Van Beneden. — In rari esemplari adulti e liberi nell' intestino della *Raja clavata*. In qualche esemplare, racchiuso in cisti nerastre, nel peritoneo del *Gadus minutus*, e del *Lophius piscatorius*. Qualche rarissimo esemplare incistato nei muscoli del *Gadus minutus*. Catania, aprile 1902.

57. *Tetrarhynchus rajae clavatae* Wagener. — Se ne rinviene qualche raro esemplare, avvolto ognuno in sottilissima cisti aderente alla parete del ventricolo della *Raja clavata*. Catania, aprile 1902.

58. *Tetrarhynchus attenuatus* Rudolphi. — Frequente in alcuni esemplari aderenti alle branchie e all' intestino retto dello *Xiphias gladius*. Messina, maggio 1902.

59. *Tetrarhynchus scombri* Diesing. — Raramente in vari esemplari incapsulati aderenti all' appendice pilorica dello *Scomber scomber*. Catania maggio 1902.

60. *Tetrarhynchus* sp. — In discreto numero di cisti alla parete esterna dell' intestino dello *Epinephælus gigas* Catania, giugno 1900.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. — Frequente ed in discreto numero di esemplari nell' intestino dei seguenti pesci : *Torpedo marmorata*, *Torpedo ocellata*, *Engraulis encrassicholus*, *Conger vulgaris*, *Solea vulgaris*, *Belone acus*, *Gobius niger*, *Gobius jozo*, *Mullus barbatus*, *Trigla corax*, *Apogon imberbis*, *Umbrina cirrhosa*, *Lichia glauca*, *Xiphias gladius*, *Box boops*, *Smaris gagarella*. — Raro nel ventricolo del *Pagrus vulgaris*. Catania, giugno 1900 ; aprile, novembre 1902.

ORDO NEMATODA

62. *Ascaris adunca* Rudolphi. — Frequente in rari esemplari nell'intestino del *Pagellus erythrinus*. Catania, luglio 1902.

63. *Ascaris incurva* Rudolphi. — Rarissimo nella prima porzione dell' intestino e nello stomaco dello *Xiphias gladius*. Messina, maggio 1902.

64. *Ascaris clavata* Rudolphi. — In rari esemplari nel ventricolo

e nell' intestino del *Merlucius vulgaris* e del *Conger vulgaris*. Augusta, Catania, giugno 1900, luglio 1902.

65. *Ascaris belones vulgaris* Wedl. — Qualche raro esemplare in cisti aderenti alla mucosa intestinale del *Belone acus*. Catania, agosto 1902.

66. *Ascaris capsularia* Rudolphi. — Tanto allo stato embrionale, quanto allo stato larvale in numerosi esemplari or racchiusi in una tenue cisti discoidale attorcigliati a spirale, or liberi in tutti gli organi della cavitá addominale dei seguenti pesci : *Conger vulgaris*. *Merlucius vulgaris*, *Trigla corax*, *Scomber colias*, *Auxis bisus*, *Trachurus trachurus*, *Lepidopus argyreus*. Allo stato larvale in una grande quantita d'esemplari liberi alla parete esterna dello somaco del *Saurus fasciatus*. Catania, aprile, novembre 1902. Capo Passaro, maggio 1903.

67. *Ascaris engraulidis* Stossich. — In rari esemplari aderenti agli organi della cavitá addominale dell' *Engraulis encrassicholus*, e dell' *Alosa sardina*. Catania, Augusta, aprile, giugno 1902.

68. *Ascaris Wedli* Stossich. — Raro nella cavitá addominale del *Mullus barbatus*. Catania, Aci-Trezza, aprile 1902.

69. *Ascaris papilligerum* Diesing. — In diversi esemplari nello stomaco e nell' intestino dello *Scomber scombrus*. Catania, maggio 1902.

70. *Ascaris scombrorum* Stossich. — Qualche raro esemplare nella cavitá addominale del *Pelamys sarda* e dello *Scomber colias*. Catania, maggio, giugno, luglio 1902.

71. *Ascaris sparoidum* Diesing. — In discreto numero di esemplari nella cavitá addominale del seguenti pesci : *Box boops*, *Oblata melanura*, *Smaris gagarella*. Catania, Ognina, giugno, agosto 1902.

72. *Ascaris petromyzi* Linstow. — Rarissimo nell' intestino del *Petromyzon marinus*. Catania, Aci-Trezza, maggio 1902.

73. *Ascaris lichiae glaucae* Diesing. — Rarissimo ed aderente agli organi della cavitá addominale della *Lichia glaucus*. Catania, settembre 1902.

74. *Ascaris* sp. — Una sola volta, fra le molte osservazioni eseguite, sui visceri della *Raja clavata*, si rinvennero aderenti leggermente alle pareti del ventricolo due piccole cisti della grossezza di una capocchia di spillo, di colorito bianco, tendente al gialliccio, contenenti ciascuno un esemplare di *Ascaris* in forma

veramente embrionale. Stante tale stato è riuscito infruttuoso tentare una possibile descrizione. Catania, aprile 1902.

75. *Ascaris* sp. — Fra i molti esemplari di *Xiphias gladius*, a varie riprese esaminati, una volta sola si ebbe l'occasione di riscontrare qualche cisti perlacea, della grossezza di un piccolo pisello, addossata alle pareti intestinali, contenente un pò di liquido biancastro, in mezzo al quale nuotava una piccola forma embrionale di *Ascaris*. Messina, maggio 1902.

76. *Ascaris* sp. — Una sola volta nell' intestino di un *Thynnus brachypterus* si rinvennero alcune cisti bianco-grigiastre dure, non trasparenti, della grossezza di un piccolo pisello. In ognuna di esse vi si racchiudeva una piccolissima forma embrionale di *Ascaris*. Tonnara di S. Panagia (Siracusa), giugno 1902.

77. *Ascaris* sp. — Nell' intestino tenne di un *Exocœtus volitans* in mezzo al muco si riscontrarono due sole cisti di colorito biancastro, racchiudenti ognuna una piccolissima forma embrionale di *Ascaris*. Riposto, settembre 1902.

78. *Ascaris affinis* Örley. — Oltremodo raro nell' intestino del *Mustelus vulgaris*. Catania, giugno 1900.

79. *Ascaris bramae* Beneden. — Rarissimo nell' intestino e nello stomaco del *Byama Rari*. Catania, giugno 1900.

80. *Ascaris phycidis* Rudolphi. — Raro nelle appendici piloriche e nell' intestino del *Phycis mediterraneus*. Aci-Trezza, giugno 1900.

81. *Ascaris succisa* Rudolphi. — Poco frequente nell' intestino della *Raja clavata*. Catania, aprile 1902.

82. *Dacnitis foveolatus* Rudolphi. — Raro nell' intestino del *Phycis mediterraneus* e del *Dentex vulgaris*. Catania, giugno 1900, maggio 1902.

83. *Cucullanus orthagorisci* Rudolphi. — Oltremodo raro nello intestino dell' *Orthagoriscus mola*. Catania, novembre 1902.

ORDO ACANTHOCEPHALA

84. *Echinorhynchus agilis* Rudolphi. — In rarissimi esemplari nell' intestino del *Mugil cephalus*. Pantani della Piana di Catania, Lago di Lentini. Golfo di Catania, agosto 1902.

85. *Echinorhynchus propinquus* Dujardin. — In discreto numero di esemplari nell' intestino del *Gobius jozo*. Raro nell' intestino

del *Gobius niger*. Rarissimo nell' intestino dell' *Umbrina cirrhosa*. Molto raro nell' intestino dell' *Anguilla vulgaris* e della *Trigla lyra*. Catania, aprile, luglio, agosto, dicembre 1902.

86. *Echinorhynchus lateralis* Molin. — Piuttosto raro nell' intestino del *Belone acus*. Catania, agosto 1902.

87. *Echinorhynchus pristis* Rudolphi. — Abbastanza raro nello intestino dello *Scomber colias* e del *Belone acus*. Catania, agosto 1902.

88. *Echinorhynchus vasculosus* Rudolphi. — Rarissimo nell' intestino del *Phycis mediterraneus*. Catania, agosto 1902.

89. *Echinorhynchus angustatus* Rudolphi. — Rarissimo nell' intestino dell' *Anguilla vulgaris*. Lago di Lentini, Pantani della Piana di Catania, dicembre 1902.

90. *Echinorhynchus* sp. — Qualche esemplare nello stomaco del *Pomatomus telescopium*. Messina, maggio 1903.

91. *Echinorynchus* sp. — In discreto numero di esemplari piccoli di colorito giallo-rossastro, infissi nella mucosa dell' intestino dello *Xiphias gladius*. Messina, maggio 1902.

RIASSUNTO SCHEMATICO DEI PESCI DELLA SICILLIA ORIENTALE VISCONTRATI INFETTI DA ELMINTI

Petromyzonidae

1. Petromyzon marinus Linné.

72. *Ascaris petromyzi* Linstow	Intestino.

Mustelidae

2. Mustelus vulgaris Müller-Henle.

42. *Anthobothrium musteli* Van Beneden .	Intestino.
44. *Phyllobothrium lactuca* Van Beneden .	Intestino.
49. *Calliobothrium coronatum* Rudolphi .	Intestino.
50. *Calliobothrium filicolle* Zschokke . . .	Valvola spirale.
55. *Tetrarhynchus tetrabothrium* Van Bened.	Intestino.

Spinacidae

3. Acanthias vulgaris Risso.

51. *Rhynchobothrium corollatum* Rudolphi.	Intestino.

Squatinidae

4. **Squatina angelus** Dum.

43. *Phyllobothrium tridax* Van Beneden. .	Pliche intestinali.

Rhinobatidae

5. **Rhinobatus columnae** M. H.

45. *Phyllobothrium gracile* Weld.	Intestino.

Torpedidae

6. **Torpedo marmorata** Risso.

45. *Phyllobothrium gracile* Weld.	Valvola spirale.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi	Valvola spirale.

7. **Torpedo ocellata** Bel.

27. *Echinostoma cesticillus* Molin.	Pliche intestinali.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi.	Pliche intestinali.

Rajdae

8. **Raja clavata** Rond.

48. *Echeneibothrium variabile* Van Beneden.	Intestino.
56. *Tetrarhynchus erinaceus* Van Beneden.	Intestino.
57. *Tetrarhynchus rajae clavatae* Wagener.	Intestino.
50. *Calliobothrium filicolle* Zschokke . . .	Valvola spirale.
74. *Ascaris* sp.	Ventricolo.
81. *Ascaris succisa* Rudolphi.	Intestino.

Myliobatidae

9. **Myliobatis aquila** C. Duméril.

46. *Echeneibothrium myliobatis aquilae* Wedl	Intestino.
50. *Calliobothrium filicolle* Zschokke . . .	Valvola spirale.

Trygonidae

10. **Trygon pastinaca** Cuvier.

47. *Echeneibothrium minimum* Van Bened.	Valvola spirale.

Clupeidae

11. **Alosa sardina** Riss.

10. *Apoblema Stossichi* Monticelli.	Esofago, stomaco.
67. *Ascaris engraulidis* Stossich	Cavità addominale.

12. Engraulis encrassicholus Cuvier.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Intestino.
67. *Ascaris engraulidis* Stossich . . . . . Cavitá addominale.

CYPRINIDAE

13. Tinca vulgaris Cuvier.

26. *Echinostoma perlatum* Nordmann . . . Intestino.
41. *Ligula simplicissima* Rudolphi . . . . Cavitá addominale.

SCOPELIDAE

14. Saurus fasciatus Riss.

56. *Ascaris capsularia* Rudolphi . . . . . Parete esterna dello stomaco.

ANGUILLIDAE

15. Anguilla vulgaris Turt.

9. *Apoblema rufoviride* Rudolphi . . . . Stomaco.
35. *Tænia macrocephala* Creplin . . . . . Intestino.
85. *Echinorhynchus propinquus* Dujardin . Intestino
89. *Echinorhynchus angustatus* Rudolphi . Intestino.

16. Conger vulgaris Cuvier.

9. *Apoblema rufoviride* Rudolphi . . . . Stomaco.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Intestino tenue.
64. *Ascaris clavata* Rudolphi. . . . . . . Ventricolo, intestino.
66. *Ascaris capsularia* Rudolphi . . . . . Cavitá addominale.

GADIDAE

17. Gadus minutus Linné.

56. *Tetrarhynchus erinaceus* Van Beneden. Peritoneo, muscoli.

18. Merlucius vulgaris Cuvier.

38. *Bothriocephalus crassiceps* Rudolphi . . Intestino.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Intestino.
64. *Ascaris clavata* Rudolphi . . . . . . Ventricolo, intestino.
66. *Ascaris capsularia* Rudolphi . . . . . Cavitá addominale.

19. Phycis mediterraneus Riss.

80. *Ascaris phycidis* Rudolphi . . . . . . Intest., app. piloriche.
82. *Dacnitis foveolatus* Rudolphi . . . . . Intestino.
88. *Echinorhynchus vasculosus* Rudolphi . Intestino.

Pleuronectidae

20. Solea vulgaris Cuvier.

5. *Podocotyle furcatum* Bremser . . . . Intestino.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi . . . . Intestino.

Labridae

21. Crenilabrus cœruleus Riss.

19. *Distoma fasciatum* Rudolphi . . . . . Intestino.

22. Julis pavo Hasselqvist.

22. *Distoma* sp. . . . . Stomaco.

Exocoetidae

23. Belone acus Riss.

7. *Podocotyle retroflexum* Molin . . . . . Intestino.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Intestino.
65. *Ascaris belones vulgaris* Wedl. . . . . Mucosa intestinale.
86. *Echinorhynchus lateralis* Molin . . . . Intestino.
87. *Echinorhynchus pristis* Rudolphi . . . Intestino.

24. Exocœtus volitans Linné.

7. *Podocotyle retroflexum* Molin . . . . . Intestino.
77. *Ascaris* sp. . . . . Mucosa intestinale.

Orthagoriscidae

25. Orthagoriscus mola Schneider.

1. *Podocotyle contortum* Rudolphi . . . . Branchie, palato.
2. *Podocotyle macrocotyle* Diesing. . . . Intestino retto.
25. *Echinostoma nigroflavum* Rudolphi . . Ventricolo.
28. *Echinostoma lydiae* Stossich. . . . . . Intestino.
37. *Anchistrocephalus microcephalus* Rud. . Intestino.
53. *Rhynchobothrium gracilis* Wagener . . Fegato.
83. *Cucullanus orthagorisci* Rudolphi. . . Intestino.

Lophiidae

26. Lophius piscatorius Linné.

8. *Apoblema appendiculatum* Rudolphi . . Ventricolo, intestino.
56. *Tetrarhynchus erinaceus* Van Beneden. Peritoneo.

Gobiidae

27. **Gobius jozo** Linné.

15. *Distoma pulchellum* Rudolphi.	Intestino.
29. *Agamodistoma valdeinflatum* Stossich .	Cavitá addominale.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi	Intestino.
85. *Echinorhynchus propinquus* Dujardin .	Intestino.

28. **Gobius niger** Linné.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi.	Intestino.
85. *Echinorhynchus propinquus* Dujardin .	Intestino.

Mullidae

29. **Mullus surmuletus** Linné.

5. *Podocotyle furcatum* Bremser	Intestino.

30. **Mullus barbatus** Linné.

52. *Rhynchobothrium paleaceum* Rudolphi.	Muscoli branchiali, cuore.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi.	Intestino.
68. *Ascaris Wedli* Stossich.	Peritoneo.

Triglidae

31. **Trigla corax** Linné.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi.	Intestino.
66. *Ascaris capsularia* Rudolphi	Cavitá peritoneale.

32. **Trigla lyra** Linné.

85. *Echinorhynchus propinquus* Dujardin.	Intestino.

33. **Scorpæna lutea** Riss.

18. *Distoma scorpænae* Rudolphi	Intestino

Percidae.

34. **Labrax lupus** Cuvier.

16. *Distoma labracis* Dujardin	Intestino.

35. **Serranus scriba** C. V.

19. *Distoma fasciatum* Rudolphi	Intestino.

36. **Epinephelus gigas** Bloch.

60. *Tetrarhynchus* sp.	Parete esterna dell' intestino.

37. **Apogon imberbis** Lacépède.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Intestino.

38. **Pomatomus telescopium** Riss.

90. *Echinorhynchus* sp. . . . . Stomaco.

SCIAENIDAE.

39. **Umbrina cirrhosa** Cuvier.

13. *Distoma umbrinae* Stossich. . . . . . Intestino.
27. *Echinostoma cesticillus* Molin. . . . . Intestino.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . Intestino.
85. *Echinorhynchus propinquus* Dujardin . Intestino.

SCOMBRIDAE.

40. **Scomber scomber** Linné.

8. *Apoblema appendiculatum* Rudolphi. . Ventricolo, intestino.
20. *Distoma bacillare* Molin . . . . Intestino.
59. *Tetrarhynchus scombri* Diesing . . . . App. piloriche.
69. *Ascaris papilligerum* Diesing . . . . . Stomaco, intestino.

41. **Scomber colias** Gmelin.

8. *Apoblema appendiculatum* Rudolphi . . Stomaco.
66. *Ascaris capsularia* Rudolphi . . . . . Cavitá addominale.
70. *Ascaris scombrorum* Stossich . . . . Cavitá addominale.
87. *Echinorhynchus pristis* Rudolphi . . . Intestino.

42. **Auxis bisus** Rafinesque.

66. *Ascaris capsularia* Rudolphi . . . . . Cavitá addominale.

43. **Thynnus vulgaris** Cuvier.

30. *Didymozoon thynni* Taschenberg . . . Branchie.

44. **Thynnus brachypterus** C. V.

76. *Ascaris* sp. . . . . Intestino retto.

45. **Pelmys sarda** Cuvier.

21. *Distoma clavatum* Rudolphi . . . . . Ventricolo.
55. *Tetrarhynchus tetrabothrium* v.Beneden. Cavitá addominale.
70. *Ascaris scombrorum* Stossich . . . . . Cavitá addominale.

45. **Trachurus trachurus** Cuvier.

23. *Distoma* sp. . . . . Ventricolo.
66. *Ascaris capsularia* Rudolphi . . . . . Cavitá addominale.

47. Lichia glauca Cuvier.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi	Intestino.
78. *Ascaris lichiae glaucae* Diesing	Cavitá addominale.

48. Lichia amia Linné.

8. *Apoblema appendiculatum* Rudolphi . .	Ventricolo.

49. Seriola Dumerili Risso.

27. *Echinostoma cesticillus* Molin.	Intestino.

50. Brama Rayi Schneider.

79. *Ascaris Bramae* van Beneden.	Stomaco, intestino.

51. Centrolophus pompilus Cuvier.

36. *Diplogonoporus uageneri* Monticelli . .	Intestino.

52. Xiphias gladius Linné.

40. *Bothriotænia plicata* Rudolphi	Intestino retto.
58. *Tetrarhynchus attenuatus* Rudolphi . .	Branchie, intest. retto.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi.	Intestino.
63. *Ascaris incurva* Rudolphi.	Porzione pilorica dello stomaco.
75. *Ascaris* sp.	Pareti intestinali.
91. *Echinorhynchus* sp.	Intestino.

TRICHIURIDAE

53. Lepidopus argyreus Cuvier.

66. *Ascaris capsularia* Rudolphi	Cavitá addominale.

SPARIDAE

54. Box boops Cuvier.

14. *Distoma ascidia* Rudolphi	Intestino.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi	Intestino.
71. *Ascaris sparoidum* Diesing	Cavitá addominale.

55. Box salpa Cuvier.

3. *Podocotyle fractum* Rudolphi	Intestino.
32. *Monostoma orbiculare* Rudolphi. . . .	Intestino.
33. *Monostoma capitellatum* Rudolphi. . .	Intestino.
34. *Monostoma spinosissimum* Stossich . .	Intestino.

56. Oblata melanura Cuvier.

13. *Distoma Brusinai* Stossich	Cloaca.

33. *Monostoma orbiculare* Rudolphi. . . . Intestino.
71. *Ascaris sparoidum* Diesing . . . . . . Cavitá addominale.

57. **Pagellus erythrinus** Cuvier.

17. *Distoma micracanthum* Stossich. . . . Intestino.
62. *Ascaris adunca* Rudolphi. . . . . . . Intestino.

58. **Pagellus mormyrus** Linné.

12. *Distoma mormyri* Stossich. . . . . . Intestino.

59. **Pagrus vulgaris** C. V.

14. *Distoma ascidia* Rudolphi. . . . . . . Intestino.
61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Ventricolo.

60. **Crysophrys aurata** Linné.

4. *Podocotyle pedicellatum* Stossich . . . Intestino.

61. **Dentex vulgaris** Cuvier.

82. *Dacnitis foveolatus* Rudolphi . . . . Intestino.

MÆNIDAE

62. **Mæna vulgaris** Cuvier.

54. *Rhynchobothrium smaridum* Pinter. . . Cavitá addominale.

63. **Mæna Osbecki** Cuvier.

54. *Rhynchobothrium smaridum* Pinter . . Cavitá addominale.

64. **Smaris gargarella** C. V.

61. *Scolex polymorphus* Rudolphi. . . . . Intestino.
71. *Ascaris sparoidum* Diesing. . . . . . Cavitá peritoneale.

MUGILIDAE

65. **Mugil cephalus** C. V.

6. *Podocotyle pachisomum* Eisenh . . . . Intestino.
24. *Distoma* sp. . . . . Cuore.
84. *Echinorhynchus agilis* Rudolphi. . . . Intestino.

SPHYRÆNIDAE

66. **Sphyræna vulgaris** C. V.

31. *Didymozoon sphyrænae* Taschenberg. . Mucosa boccale.

INDICE ALFABETICO

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES AFFECTIONS

CONNUES SOUS LE NOM D'ACTINOMYCOSE

(2e mémoire)

PAR

J. LIGNIÈRES et G. SPITZ

(Planche V)

Actinophytose a Streptothrix (1)

(*Streptothrix Spitzi*)

Dans un précédent mémoire, nous avons formulé les conclusions suivantes :

« *La propriété qu'ont certains microbes de former dans l'organisme des filaments dichotomisés* (*Streptothrix*) *ou des renflements en massue, n'est pas un caractère spécifique; elle est au contraire commune à une foule d'espèces microbiennes n'ayant entre elles aucune parenté; cette propriété ne saurait donc constituer la base d'une classification et justifier la formation d'un groupe* » (2).

En décrivant sous le nom d'*Actinobacille* un fin microbe très différent des *Streptothrix*, mais formant, comme ces derniers, dans l'organisme, des touffes d'éléments renflés en forme de massues (Actinophytes), nous avons déjà justifié une partie de cette proposition.

Dans le présent travail, nous nous proposons d'étudier un

(1) Dans notre mémoire sur l'Actinobacillose, nous avons proposé le nom d'Actinophytose pour toutes les affections dans lesquelles on trouve des grains en massues rayonnées. Puisque nous avons démontré que ces grains en massues peuvent être produits par des microbes d'espèces très différentes, le mot Actinophytose ne peut avoir aucune signification spécifique ; c'est pourquoi il est nécessaire de le faire suivre du nom du parasite qui produit ces grains en massues.

(2) Actinobacillose. *Revista de la Sociedad medica Argentina*, n° 53, enero-febrero 1902. — Contribución al estudio de las afecciones conocidas bajo el nombre de actinomicosis. *Boletin de Agricultura y Ganaderia* 1r de marzo de 1902 — L'actinobacillose. *Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire*, 1902, p. 487.

microbe poussant en filaments dichotomisés et donnant, lui aussi, dans l'organisme, des renflements typiques, mais radicalement distinct par ses propriétés culturales et biologiques du *Streptothrix actinomyces bovis* classique.

Nous poursuivons ainsi la dislocation de l'*Actinomycose* considérée en tant qu'affection spécifique, déterminée par un agent unique.

I. — Observation clinique

Le sujet qui nous a fourni l'objet de cette étude est un Bœuf de 2 ans, provenant d'un établissement de la province de Cordoba (République Argentine), où l'on observe assez fréquemment des cas d'Actinomycose du maxillaire (1). Nous l'avons eu en observation au laboratoire depuis le mois de février 1902 jusqu'au 14 mars 1903, époque où nous l'avons sacrifié dans le but de pratiquer l'autopsie (fig. 1).

Au moment de son arrivée, l'animal était porteur d'une lésion énorme de la moitié droite de la tête, se traduisant par une tuméfaction très saillante, bombée, s'étendant sur toute la région du maxillaire supérieur, depuis le bord inférieur de ce dernier, jusqu'au chanfrein, gagnant en haut l'arcade orbitaire qu'elle déforme, et ne s'arrêtant à la partie antérieure de la tête qu'un peu en avant de la première molaire. Cette tuméfaction est insensible à la palpation, adhérente à la peau et aux tissus osseux sous-jacents, dure, de consistance osseuse ou fibreuse, sauf en quelques points, variant de l'étendue d'une pièce de deux francs à celle d'une pièce de cinq francs, mous et nettement fluctuants. A la surface de la tumeur, la peau est percée, en 4 endroits, d'orifices fistuleux qui donnent accès dans de petites cavités creusées au sein du tissu osseux et renfermant un pus sur les caractères duquel nous insisterons plus loin. Trois de ces orifices fistuleux sont obstrués par des végétations fongoïdes de volume variable; l'une d'elles atteint les dimensions d'une noix ; elle est très saillante, molle, sa surface est sèche, d'aspect parcheminé. Un quatrième trajet fistuleux non obstrué et paraissant de

(1) L'étude bactériologique d'une lésion *actinomycosique* du maxillaire inférieur sur un Taureau de même provenance, nous a donné un résultat complètement différent, ce qui vient encore à l'appui de notre thèse de la pluralité des actinophytoses.

formation récente donne issue à du pus crémeux riche en granulations calcaires.

La lésion porte également sur la voûte du palais ; la moitié droite du plancher buccal est bombée et fait saillie à l'intérieur de la bouche ; les gencives sont tuméfiées, violacées, au niveau des trois premières molaires et les dents sont branlantes; la langue est indemne.

En dehors de la déformation de la tête qui prend une expression hideuse, la présence de la tumeur osseuse détermine d'autres



Fig. 1. — Bœuf atteint d'actinophytose à *Streptothrix Spitzi*.

symptômes locaux moins importants : paralysie faciale droite avec déviation du museau à gauche ; exophtalmie légère et semi-occlusion de l'œil par la paupière inférieure repoussée en haut par la tumeur ; jetage muco-purulent unilatéral avec granulations parasitaires ; ptyalisme abondant, lenteur de la mastication et grincements de dents provoqués selon toute vraisemblance par des douleurs dentaires.

Cependant, l'état général du sujet est assez bon et l'amaigrissement assez peu sensible.

Pendant le séjour du malade à notre hôpital, les symptômes ci-dessus n'ont guère subi de modifications. Cependant, la tuméfaction osseuse s'est encore un peu accrue ainsi que les végétations fongoïdes ; le nombre des points mous, fluctuants, a diminué progressivement et ils ont été remplacés par un tissu de consistance osseuse. Le ptyalisme et les grincements de dents ont augmenté peu à peu ; dans ces derniers temps, la mastication se faisait avec assez de difficulté, et l'animal avait sensiblement maigri ; il fut sacrifié par effusion de sang le 14 mars 1903.

Autopsie. — Pratiquée immédiatement après la mort.

Outre la présence de la tumeur osseuse sur laquelle nous reviendrons plus loin, le côté droit de la tête montre, au niveau de la peau, 6 ou 8 orifices fistuleux recouverts par une croûte sèche, à surface lisse, parcheminée, d'où la pression fait sourdre encore un peu de pus ; quelques-uns sont obstrués par des végétations fongoïdes plus ou moins saillantes. La plus considérable de ces végétations atteint le volume d'une petite pomme ; elle est de consistance fibreuse, reliée à la peau par un large pédicule ; sa surface est recouverte de petites croûtes d'aspect pelliculeux parcheminé et d'autres sèches et saignantes, ces dernières surtout nombreuses à la base. A la section, on la trouve constituée par un tissu fibroïde assez doux, parsemé de petits foyers miliaires ramollis, surtout nombreux à la périphérie et souvent confluents, d'où la pression fait sourdre des gouttelettes de pus renfermant des granulations parasitaires blanc jaunâtre, non calcaires. Le pédicule de cet actinophytome est en continuation directe avec un tissu fibreux, dur, lardacé et juteux, qui réunit la peau à la tumeur osseuse.

Le tissu qui forme la tuméfaction de la joue est d'apparence néoplasique, dur, de consistance osseuse ; il est parsemé, dans toute son épaisseur, de cavités de dimensions variables allant du volume d'un pois à celui d'une noix, comblées par du tissu d'apparence fibroïde ou remplies de pus blanc épais, visqueux, renfermant un nombre extraordinaire de granulations calcaires; en certains endroits, le nombre des grains parasitaires est tel que la consistance du pus en est modifiée ; celui-ci ressemble alors à un mortier épais : c'est une véritable purée de grains.

Dans la bouche, on constate une déformation de la moitié droite

de la voûte palatine, celle-ci est bombée, surtout au niveau des trois premières molaires. La muqueuse buccale est parsemée d'une dizaine de petites ulcérations à bords peu saillants; le fond de ces ulcérations est lisse et plat ; il ne présente pas de granulations jaunes ; quelques cicatrices étoilées disséminées parmi les ulcérations et de mêmes dimensions, témoignent de la possibilité de leur guérison. Les trois premières molaires sont branlantes; le 2e alvéole



Fig. 2. — Lésions produites dans le maxillaire supérieur du Bœuf par le *Streptothrix Spitzi* (maxillaire vu de profil).

est occupé par deux dents indépendantes l'une de l'autre, placées côte à côte et paraissant contemporaines; à ce niveau, la gencive est très tuméfiée, bourgeonnante et recouverte de végétations fibreuses en forme de choux-fleurs.

Le maxillaire supérieur droit, les deux branches du maxillaire inférieur, la langue, le pharynx et les glandes salivaires (parotides et sous-maxillaires) ne présentent aucune lésion.

Les ganglions sous-glossiens gauches ne sont pas altérés; ceux du côté droit sont un peu plus gros, plus fermes et plus juteux à

la coupe que ceux du côté opposé, mais ils ne *contiennent pas de lésions*.

Les ganglions rétro-pharyngiens sont sains.

Les *poumons* renferment quelques lésions. L'une d'elles siège dans le poumon gauche; elle est du volume d'un pois, superficielle, saillante, assez ferme ; elle a l'apparence d'une lésion tuberculeuse ; mais à la coupe elle se montre constituée par un foyer d'hépatisation grise d'où la pression fait soudre des gouttelettes de pus renfermant des granulations parasitaires *non calcaires*.



Fig. 3. — Lésions produites dans le maxillaire supérieur du Bœuf par le *Streptothrix Spitzi* (maxillaire vu par la face inférieure).

Un autre foyer, plus important, siège au niveau du bord inférieur du lobe antérieur droit. Il consiste en une zone d'hépatisation

grise, de l'étendue d'une pièce de cinq francs, à contour irrégulier, de consistance ferme, mais non dure. Ce point n'adhère pas à la plèvre qui, à ce niveau, est d'un blanc laiteux, opaque ; sa surface est mamelonnée et chaque bosselure correspond à un lobule pulmonaire. Dans l'interstice des lobules, comme à la surface, la plèvre est un peu épaissie et opaque. A la coupe, on voit que la lésion est constituée par du tissu pulmonaire hépatisé, blanc grisâtre, parsemé de petits foyers purulents à pus crémeux, renfermant, comme dans la lésion précédente, un grand nombre de granulations parasitaires non calcaires ; on reconnaît très bien dans la lésion la disposition lobulaire ; chaque lobule paraît former un foyer spécial séparé des voisins par du tissu conjonctif relativement dense. Dans les coupes microscopiques, on retrouve cet aspect assez caractéristique de la lésion.

Les ganglions bronchiques et médiastinaux ne nous ont pas paru altérés malgré l'attention que nous avons apportée dans la recherche des lésions.

Les organes de la cavité abdominale étaient également indemnes.

L'examen des lésions osseuses, après macération de la tête, nous a permis de constater leur similitude avec les altérations classiques de l'*Actinomycose* des os, de l'ostéo-sarcome des pathologistes anciens (fig. 2 et 3). Nous n'y insisterons donc pas.

Caractères du pus.

Le pus qui s'écoule spontanément des fistules, ou que l'on obtient par la ponction des points fluctuants est blanc ou légèrement grisâtre, d'une odeur désagréable, assez peu prononcée, rappelant celle des fromages fermentés. Il est beaucoup moins compacte et visqueux que le pus actinobacillaire ; sa consistance est celle d'une crème épaisse, mais coulante : il monte facilement dans les pipettes, même de moyen calibre, et il s'en écoule par son propre poids. Son aspect est assez homogène ; cependant, à simple vue, on y distingue sans difficulté la présence d'un grand nombre de grains jaunâtres de toutes dimensions ; les uns très fins, du volume d'un grain de sable, sont à peine perceptibles, les autres atteignent les dimensions de la tête d'une grosse épingle ou davantage encore. Tous ces grains n'ont pas non plus la même consistance : les uns sont fragiles, visqueux, se dissocient facile-

ment entre les doigts ou les lamelles de verre ; d'autres, au contraire, sont calcifiés et présentent une grande résistance à l'écrasement.

Ces caractères d'ensemble diffèrent donc notablement de ceux du pus actinobacillaire ; par contre, ils concordent avec ceux que l'on attribue au pus de l'actinomycose classique.

II. — Examen microscopique du pus.

Étude du parasite dans l'organisme. — La maladie que nous étudions ayant été souvent confondue avec l'actinobacillose et d'autres actinophytoses (comme cela ressort nettement à la lecture des nombreux travaux publiés sur l'*Actinomycose* et particulièrement du classique mémoire de Boström), nous croyons devoir reprendre avec quelques détails l'étude microscopique des grains parasitaires, avant d'exposer les caractères du microbe que nous avons isolé. Nous nous attacherons surtout à décrire les particularités qui doivent faire distinguer les différentes affections confondues jusqu'ici. Le lecteur y trouvera parfois la raison des divergences que l'on rencontre si fréquemment dans les remarquables travaux publiés sur ce sujet.

Nous étudierons successivement :

1° Le pus à l'état frais ;

2° Les préparations de pus fixé sur lames, coloré par la méthode de Gram ;

3° Les coupes fines de pus inclus dans la paraffine.

Examen microscopique du pus frais. — L'étude du pus à l'état frais peut être fait par examen direct sans coloration, après l'avoir étalé en couche mince entre une lame et une lamelle, opération qui n'est pas toujours sans difficulté, à cause de la consistance des grains calcaires et de leur résistance à l'écrasement. Par ce simple moyen, on acquiert déjà d'importantes notions sur la forme, la couleur et la nature des parties constitutives des granulations ; cependant nombre d'éléments petits et transparents échappent à l'examen ou apparaissent d'une façon diffuse ; aussi est-il préférable de diluer le pus dans une goutte de glycérine picro-carminée.

A l'aide de ce procédé, l'examen microscopique décèle facilement, au milieu des globules de pus, la présence d'un grand

nombre de grains ou touffes parasitaires de toutes dimensions se détachant par leur coloration jaune plus ou moins foncée sur le fond incolore ou à peine rosé de la préparation.

Ces touffes ou actinophytes offrent dans leur structure de grandes variations suivant leur âge et leurs dimensions.

Pour la facilité des descriptions, nous les diviserons en trois groupes suivant leurs dimensions :

1° Petites granulations (pl. V, fig. 1 *a* et *b*);

2° Granulations moyennes ;

3° Grosses granulations.

1° Les plus *petites* granulations atteignent à peine 40 à 50 μ, c'est-à-dire qu'elles sont imperceptibles à l'œil nu. Leur forme est plus ou moins régulièrement sphérique, leur apparence fragile, leur aspect vitreux ou muqueux, leur couleur légèrement grisâtre à l'examen sans coloration. Par l'addition de picro-carmin, elles prennent une très légère teinte jaunâtre. Ces touffes sont constituées à peu près exclusivement par un amas d'éléments filamenteux très fins, réfringents, pourvus d'un double contour, enchevêtrés d'une façon inextricable au centre, mais présentant nettement une disposition radiaire à la périphérie.

Ces amas filamenteux représentent évidemment le premier stade de ce que nous appellerons la *touffe* typique ou *granulation* actinophytaire. A son origine donc, celle-ci est exclusivement filamenteuse ; les éléments qui la constituent présentent une égale épaisseur dans toute leur étendue ; ils ne montrent pas encore de renflements terminaux ; par contre il est souvent possible d'y reconnaître l'existence de *ramifications dichotomiques vraies*.

2° A côté de ces touffes jeunes, on rencontre dans la même préparation des amas filamenteux arrivés à un stade plus avancé de leur évolution ; leur volume est un peu plus considérable ; leur diamètre varie entre 50 et 100 μ ; leur feutrage est plus épais, plus compact, leur aspect moins muqueux ; on leur devine déjà une certaine consistance ou tout au moins une plus grande cohésion entre les éléments. Après addition de glycérine picro-carminée, ils prennent la teinte jaune déjà plus nettement que les touffes du groupe précédent. Mais ce qui les caractérise surtout, c'est l'apparition des renflements piriformes (pl. V, fig. 1 *c*).

Dans ces touffes, en effet, un plus ou moins grand nombre de

filaments se terminent par de légers renflements qui ne méritent pas encore le nom de massues, mais en représentent le début. Ces renflements ont à peine, au niveau de leur plus grande largeur, deux ou trois fois l'épaisseur du filament (1 μ 5 à 2 μ) ; ils sont en continuation directe avec lui, sans transition brusque, sans étranglement ou ligne de démarcation nette et semblent formés par un simple épaississement de son extrémité périphérique. Leur composition est apparemment la même que celle du protoplasma filamenteux ; comme ce dernier ils sont très réfringents et se colorent encore assez peu par l'acide picrique.

3° Les granulations *grandes* sont de beaucoup les plus nombreuses et les plus intéressantes. Elles ont un volume très variable (250 à 500 μ) ; quelquefois elles atteignent des dimensions considérables (de 0,5 à 1 ou 2 millimètres de diamètre) ; dans ces cas, elles résultent de l'agglomération de plusieurs granulations primitives. Leur couleur est opaque, légèrement grisâtre ou jaunâtre ; leur consistance ferme; parfois même, elles ont subi la dégénérescence ou l'infiltration calcaire; elles sont alors dures et s'écrasent difficilement. Nous n'insisterons pas sur ces caractères physiques, sujets à d'assez grandes variations et identiques à ce que les auteurs notamment Israël et Boström ont maintes fois décrits. Leur structure est aussi la structure classique de la « *granulation actinomycosique* » ; on y distingue deux parties très nettement différenciées :

La zone externe est formée par une rangée d'éléments très réfringents, d'apparence protoplasmique, renflés en poires ou en massues ; à extrémités périphériques arrondies d'une façon régulière, tandis que les extrémités centrales sont effilées et se continuent par un filament. Ces massues sont ordinairement très serrées les unes contre les autres et convergent vers le centre par leur extrémité effilée, disposition qui donne à la colonie l'aspect rayonné de Harz.

La zone centrale est occupée par un feutrage épais de filaments enchevêtrés et de granulations réfringentes plus ou moins nombreuses.

Nous examinerons successivement et séparément ces divers éléments afin de fixer aussi exactement que possible les caractères de la maladie que nous étudions. Nous ferons remarquer toutefois

que leur description ayant été faite bien des fois à propos de l' « Actinomycose », surtout dans le mémoire de Boström, nous insisterons seulement sur certains détails relatifs à la structure ou sur des particularités destinées à fixer un point de doctrine.

Les massues. — Dans le pus frais, examiné sans coloration, ces éléments apparaissent sous l'aspect de corps incolores, brillants, renflés en forme de larme batavique ou de poire plus ou moins allongée; une extrémité est arrondie et libre, l'autre est effilée et en continuation directe avec un filament. Après addition d'une goutte de glycérine picro-carminée, ils se colorent fortement en jaune ; d'une manière générale, ils se comportent vis-à-vis des réactifs colorants comme des corps strictement acidophiles. Leurs dimensions, et par suite leur forme sont extrêmement variables ; quelquefois ils constituent comme un simple épaississement de la partie terminale du filament auquel ils adhèrent ; ils atteignent alors à peine 1 μ à 1 μ 5 d'épaisseur. D'autres fois, au contraire, ils présentent des dimensions relativement énormes (7 à 8 μ au niveau de leur plus grande épaisseur) ; on peut considérer comme dimensions moyennes les massues de 3 à 4 μ de largeur sur 15 à 20 μ de longueur. La substance qui constitue ces éléments est d'apparence homogène, très réfringente ; bien que présentant une certaine raideur, elle n'a pas de membrane d'enveloppe propre ; et l'on n'y distingue ordinairement aucun détail de structure interne, aucune trace de différenciation.

Dans quelques-unes cependant, *mais non dans toutes*, on aperçoit au centre une traînée longitudinale orientée suivant l'axe fictif de la massue et s'étendant depuis la partie effilée de celle-ci jusqu'à une certaine distance de l'extrémité arrondie où elle se fond insensiblement. Le plus souvent, cette ligne est appréciable uniquement à cause de sa réfringence moindre que celle de la substance de la massue, et de sa structure plus compacte ; d'autres fois, au contraire, elle se dessine plus nettement sous forme d'une ligne sombre à double contour. Elle correspond, comme nous le verrons mieux à l'aide d'autres méthodes d'examen, au prolongement du filament à l'intérieur de la massue.

Quelquefois, la place du filament central dont nous ne discuterons pas l'existence déjà admise pour l'actinomycose classique, et rendue évidente dans les préparations traitées par les couleurs d'aniline.

n'est occupée que par une file de fines granulations brillantes, incolores, d'épaisseur à peu près égale. Ces granulations qui ont été observées aussi par Ponfick, Bang, Israël, Babès, Boström, ont été considérées par ce dernier comme des *spores*; nous verrons plus loin que nous les interprétons plutôt comme le résultat de la désagrégation du protoplasma filamenteux.

A côté des massues à forme régulière, typique, dont nous venons d'ébaucher la description, on rencontre souvent, dans la même préparation, des éléments également en massues, présentant certaines particularités de forme ou même (apparemment tout au moins) de structure.

Ces particularités consistent dans l'existence de ramifications, de bourgeonnements, de pseudo-stratifications et enfin de divisions longitudinales ou transversales des massues. Ces divers aspects ont été pour la plupart signalés par Israël, et longuement commentés par Boström qui a fait admettre leur réalité contestée cependant encore par quelques-uns (1). Nous avons observé, dans nos préparations, les différentes particularités si minutieusement étudiées par ce dernier auteur et nous n'en reprendrons la description sommaire que pour signaler les divergences qui nous séparent quant à l'interprétation des faits observés.

Le premier point qui attire l'attention est celui de l'*apparence ramifiée* des massues. La ramification peut porter soit sur la partie effilée, soit sur le corps même de la massue. La première de ces particularités est très fréquente et facile à expliquer : les massues, nous l'avons vu, se développent à l'extrémité d'un filament. Quand celui-ci est ramifié, les massues conservent souvent entre elles des rapports qui rappellent ceux qui existent entre les différentes branches d'un arbre ; suivant la brièveté ou la longueur des pédicules, suivant leur nombre et leur disposition, l'ensemble formé prend des aspects très divers dont nous reproduisons quelques-uns (pl. V, fig. 3, *j*, *k*). D'autres fois, les modifications portent sur le corps même des massues et consistent dans l'existence d'échan-

(1) Plusieurs de ces formes, comme les ramifications et les bourgeonnements, sont communes à l'actinobacillose et à l'affection que nous décrivons, tandis que d'autres comme les divisions transversales et surtout les apparences de stratification ne se rencontrent pas dans la première, ce qui explique une partie des divergences observées chez différents auteurs.

crures, d'entailles intéressant plus ou moins profondément leur extrémité renflée. Suivant la profondeur et le nombre des incisions, l'étendue et la forme de la partie commune, la figure formée prend des aspects différents, variés à l'infini, dont les plus communs ont été très justement comparés par J. Israël à une main dont les doigts sont écartés, aux branches d'un éventail ouvert, à une feuille de Châtaignier, etc. On observe ainsi parfois de véritables bouquets de massues réunies par une sorte de pédicule commun. Nous pensons avec Harz, J. Israël, Ponfick, Johne, et contrairement à Boström, que ces formes résultent du bourgeonnement, de la prolifération des massues, et non pas d'une véritable division longitudinale « par simple éclatement ou par plissement des couches supérieures de la substance de la massue ».

Le bourgeonnement permet encore d'interpréter les diverses et capricieuses figures que l'on trouve çà et là au milieu de massues typiques ; il peut se produire, en effet, dans les points les plus divers, aussi bien à la base qu'au sommet et sur les parties latérales des massues. Les croissances peuvent être uniques ou multiples, symétriques ou non et les aspects qui en résultent peuvent, on le comprend, varier à l'infini. Par contre, ces massues secondaires ou ces bourgeons, quelles que soient leur forme et leur importance, ont un caractère commun déjà observé par Boström : ils sont dépourvus de filament central.

Une autre modification, bien décrite par Israël, mérite d'être signalée : elle se rapporte à la *division transversale* des massues. Dans un premier aspect, la massue paraît coupée perpendiculairement à son axe par une ou plusieurs scissures droites très nettes ; dans ce cas les divers segments restent ordinairement accolés et l'ensemble conserve la forme générale de la massue primitive. Mais l'extrémité périphérique de chacun d'eux est toujours plus large que l'autre, ce qui donne à la figure l'aspect d'une pile de gobelets à moitié déboîtés. Quelquefois, les différents segments sont un peu éloignés l'un de l'autre ; on voit alors qu'ils sont maintenus en connexion par le filament central visible dans l'espace intersegmentaire ; leurs rapports entre eux sont alors analogues à ceux des différents grains d'un chapelet. Il nous semble bien que cette disposition soit en corrélation directe avec l'accroissement en longueur du protoplasma filamenteux, ou avec la division transversale de celui-ci.

A côté de ces cas où la scissure est nette, complète, ressemblant à une cassure, il convient de signaler l'existence de massues présentant des étranglements plus ou moins accusés vers le milieu de leur longueur (pl. V, fig. 2). Le plus souvent ce phénomène s'observe dans des massues possédant un filament central très net : dans ces cas, au niveau de l'étranglement, l'élément se trouve réduit presque exclusivement au filament entouré seulement d'une mince couche protoplasmique. D'autres fois, les étranglements sont multiples et à peine marqués; ils se manifestent alors simplement par une faible ondulation du contour de la massue.

Ces particularités ont aussi été longuement décrites par Boström qui en a dessiné plusieurs avec une grande exactitude, mais sans élucider leur mode de production.

Pour notre part, nous croyons que les unes résultent nettement d'un véritable processus incomplet de division transversale, tandis que d'autres constituent, au contraire, de simples *anomalies* de forme ou doivent être considérées comme des accidents de préparation. Dans ce dernier groupe nous rangerons les scissures obliques et les massues hérissées sur toute leur surface de saillies qui leur donnent l'aspect de « *pommes de pin* » allongées (pl. V, fig. 2), à la production desquelles nous avons assisté dans des préparations à la glycérine picro-carminée.

Enfin, il est une dernière particularité des massues que nous devons signaler, non seulement parce qu'elle se présente fréquemment dans les préparations, mais encore parce qu'elle comporte des réflexions importantes quant à la constitution et au mode de formation des massues. Nous voulons parler des *striations* de leur surface et d'une apparence de différenciation de leur substance en deux ou plusieurs zones délimitées par une ligne nette (pl. V, fig. 2). Cette ligne se présente toujours sous le même aspect : celui d'un arc ellipsoïdal régulier, très délicat, confondu à ses extrémités avec le contour de la massue, et d'autant plus distant de celui-ci que le point envisagé est plus près de l'extrémité renflée. Les zones qui paraissent être délimitées par cette ligne sont distinctes surtout grâce à une notable différence de leur réfringence, l'externe étant un peu plus claire que l'interne. C'est cet aspect que Boström considère comme le résultat de la *stratification* de la substance de la massue, autour du filament central. Il paraît particulier à l'acti-

nophytose à *Streptothrix*; en tous cas, nous ne l'avons jamais rencontré dans les massues actinobacillaires. Nous ne pensons pas que la production de ce phénomène soit intimement liée au mode de formation des renflements piriformes et puisse être interprétée comme indiquant « que des processus de dépôts périodiques se sont accomplis dans une certaine partie (le plus souvent la partie périphérique) de la membrane du filament ».

Nous considérons plus volontiers ces anomalies comme des accidents de préparation résultant, selon toute vraisemblance, de la pénétration graduelle et non uniforme des parties périphériques du protoplasme des massues par les liquides ajoutés à la préparation (eau, glycérine).

Ce phénomène de pénétration qu'on peut suivre au microscope, explique aussi l'éclatement mécanique de la substance de la massue et la production des figures bizarres qu'aucun système de stratification ne parvient à expliquer (pl. V, fig. 2).

Les filaments ou mycélium. — Des diverses parties constitutives de la granulation typique, la partie filamenteuse est la plus constante : elle ne fait jamais défaut (1).

Les filaments occupent, comme nous l'avons déjà dit, la partie centrale du grain parasitaire, où ils forment un réseau compact au milieu duquel on rencontre des granulations cocciformes très réfringentes.

L'enchevêtrement des filaments est ordinairement tel qu'il est impossible de suivre leur trajet et de se faire, dans les préparations fraîches, sans manipulation préalable, une idée exacte de leur longueur et de leur aspect. Souvent, cependant, ils ne restent pas cantonnés strictement à la partie centrale de la granulation ; ils s'insinuent au contraire entre les renflements piriformes et débordent en dehors de la touffe ; on remarque alors leur aspect sinueux et l'existence de ramifications dichotomiques.

Mais une étude complète du mycélium nécessite une dissociation profonde du grain. Après isolement, les éléments mycéliens se présentent sous forme de bâtonnets de longueur très variable et de véritables filaments d'une épaisseur de 1 μ environ pourvus d'un double contour, réfringents et légèrement sinueux.

(1) Boström, Bang., etc..., disent que les filaments font souvent défaut dans l'actinomycose des Bovidés ; ces cas doivent être rapportés à l'*actinobacillose*.

La longueur des filaments est parfois très considérable : quelques-uns occupent tout le diamètre du champ microscopique ; ils présentent alors le plus souvent des *ramifications dichotomiques vraies*. Quand la dissociation du grain n'a pas été faite avec précaution, les formes longues sont rares ; ce sont au contraire les formes brèves qui prédominent : filaments courts et bâtonnets ; mais quelle que soit leur longueur, ces éléments ont un diamètre égal à celui des longs filaments et présentent souvent comme eux des ramifications ; ils sont donc de même nature et résultent de leur rupture par action mécanique.

La substance des filaments, très réfringente dans les préparations fraîches, fait l'impression d'un élément protoplasmique homogène, sans granulations, comme sans membrane d'enveloppe différenciée. Elle reste à peu près incolore dans les préparations au picro-carmin. Il n'est pas très rare de rencontrer des filaments adhérents aux renflements en massue ; ils semblent alors la continuation de l'extrémité effilée de celle-ci. En réalité, le filament pénètre dans la massue comme nous l'avons dit plus haut ; on peut quelquefois suivre son trajet dans l'intérieur de celle-ci jusqu'à une certaine distance de l'extrémité arrondie. Sa direction est alors celle de l'axe de la massue, dont elle suit toutes les sinuosités. Mais cette disposition du filament dans l'intérieur de la massue n'est qu'exceptionnellement appréciable, d'une façon nette, dans les préparations fraîches : elle doit surtout être étudiée, après coloration, dans les coupes fines de pus ou de tissus inclus dans la paraffine.

Les granulations. — Les granulations se présentent sous l'aspect de petits corps ronds, brillants, très réfringents, d'un diamètre en général un peu supérieur à celui des filaments. Elles sont disséminées dans toute l'étendue de la partie microbienne de la colonie, mais elles en occupent surtout le centre auquel elles donnent un aspect chagriné plus ou moins prononcé. Leur quantité est très variable suivant la nature des touffes ; elles sont ordinairement d'autant plus nombreuses et plus serrées que la touffe paraît plus âgée ; c'est ainsi qu'elles sont rares ou même tout à fait absentes dans les colonies jeunes, non encore pourvues de massues tandis qu'elles constituent dans les gros grains adultes la plus grande partie de la zone microbienne centrale. Ces granulations restent

incolores après addition d'acide picrique ; elles ont au contraire, comme nous le verrons plus loin, une grande affinité pour les matières colorantes basiques.

Ces éléments résultent de la transformation granuleuse du protoplasme des filaments dont ils présentent les mêmes réactions colorantes et diffèrent absolument des pseudo-spores qu'on rencontre dans les cultures de certains *Streptothrix* (*Streptothrix actinomyces*).

Examen du pus étalé sur lames et coloré par la méthode de Gram et ses dérivés. — L'examen des préparations colorées fournit d'intéressantes données relatives à la morphologie des éléments microbiens de la granulation actinophytaire et même aux rapports qui existent entre les filaments et les renflements piriformes. De plus, il constitue un élément très important de *diagnostic différentiel* des diverses actinophytoses.

Les préparations peuvent être faites en écrasant entre deux lames porte-objets des grains fraîchement isolés du pus, suivant le procédé classique. Nous préférons étaler le pus lui-même ; on est ainsi plus sûr de conserver intacts les éléments fragiles. Nous avons déjà signalé la difficulté de l'écrasement dans certains cas à cause de la présence de granulations calcaires; nous n'y insisterons pas. Le pus étalé, il reste à le fixer par la chaleur et à le colorer.

Pour la coloration, la plupart des méthodes employées couramment dans la pratique bactériologique sont applicables. Celle de Gram convient particulièrement. Par cette méthode, les différents éléments microbiens de la touffe, filaments et granulations cocciformes, restent bien colorés (fig. 4) ; il faut éviter toutefois de pousser trop loin la décoloration, sous peine de voir les filaments prendre un aspect granuleux plus ou moins accentué. Par contre, ce procédé présente l'inconvénient de laisser les massues incolores et de ne permettre de voir que très difficilement les rapports qui existent entre ces éléments et le mycélium. Pour y remédier, nous avons employé la méthode suivante qui n'est qu'un dérivé de celle de Gram, la modification portant uniquement sur le réactif décolorant :

1° colorer avec la solution de violet de gentiane phéniquée, durant 3 minutes environ ;

2° faire agir la solution iodo-iodurée pendant quelques secondes ;

3° décolorer *rapidement* avec :

Alcool	40
Acétone	10
Acide acétique	1
Rubine acide (solution aqueuse saturée)	VI gouttes

4° laver rapidement ; sécher ; monter.

Par cette méthode, les filaments et les granulations sont colorés en bleu foncé, comme dans le Gram classique, les renflements piriformes en rouge plus ou moins intense ; le fond de la préparation est rosé ou même presque incolore si on lave longuement.

L'examen des préparations montre alors :

1° des éléments cocciformes, présentant l'aspect et la grosseur de ceux du Staphylocoque. Ces *Cocci* sont ordinairement nombreux, disséminés d'une façon quelconque dans toute l'étendue de la préparation ; on les rencontre aussi assez souvent groupés en amas plus ou moins considérables, et exceptionnellement en courtes chaînettes comme le Streptocoque.



Fig. 4. — Pus étalé et coloré au Gram-Nicolle.

2° des filaments de toutes les longueurs, extrêmement nombreux, disséminés dans toute l'étendue de la préparation, ou réunis en touffes qui ont échappé aux manœuvres de la dissociation.

Les plus petits de ces éléments se présentent sous l'aspect de fins Bacilles ressemblant assez à ceux de la diphtérie ; les plus grands au contraire, qui seuls méritent véritablement le nom de filaments, atteignent parfois une longueur supérieure au diamètre du champ microscopique. Ils sont relativement fins ; leur épaisseur est à peine supérieure à 0 μ 5. Le protoplasma des filaments est homogène et garde uniformément la matière colorante quand la coloration a été bien faite ; mais il prend facilement un aspect granuleux, lorsque par le procédé de Gram ou toute autre méthode exigeant l'emploi d'un décolorant, on fait agir ce dernier un peu

trop longtemps. La direction des filaments n'est pas rectiligne; elle est au contraire ondulée ou sinueuse, quelquefois même spiralée en vrille ou en tire-bouchon ; cet aspect se rencontre même dans les formes courtes. Enfin, les éléments mycéliens présentent une autre particularité très importante : beaucoup d'entre eux, mais non pas tous, sont ramifiés. Les filaments secondaires ainsi formés sont de même grosseur que le filament primitif; ils s'en détachent presque à angle droit, sans solution de continuité. Il s'agit là d'une ramification vraie et dichotomique (pl. V, fig. 3, *j*, *k*).

Il n'est pas exceptionnel de rencontrer dans les préparations, colorées par le procédé que nous avons indiqué plus haut, des filaments encore adhérents par une de leurs extrémités à un renflement piriforme. Si la coloration est bien réussie, on peut suivre le filament à l'intérieur de la massue (pl. V, fig. 3, *i*) : il y pénètre par l'extrémité effilée, en suit toutes les sinuosités et s'arrête à quelque distance du pôle arrondi, le plus souvent par un léger renflement (pl. V, fig. 3, *f*, *g*, *h*). Comme l'a indiqué Boström, la massue coiffe le filament à la façon d'un doigt de gant et en suit toutes les sinuosités; sa partie effilée se perd insensiblement à la surface du mycélium auquel elle semble former durant un court trajet, comme une mince gaîne protoplasmique; quelquefois enfin, mais exceptionnellement, il est permis de constater l'existence de massues encore adhérentes à diverses branches d'un filament ramifié (pl. V, fig. 3, *j*, *k*).

A côté de ces éléments isolés, disséminés dans toute la préparation, on rencontre assez fréquemment de petites touffes qui ont été respectées par la dissociation. Les unes sont irrégulières et composées par des filaments de toute longueur, ramifiés ou non, et terminés parfois à leur extrémité périphérique par une massue adhérente, typique ; ces amas résultent nettement de la dislocation du grain actinophytaire dont ils représentent un fragment.

D'autres au contraire sont assez régulièrement sphériques et constitués par un amas de filaments ordinairement courts, peu ramifiés, prenant d'une façon intense la matière colorante et qui ont une disposition rayonnée. Beaucoup de ces filaments sont terminés à leur extrémité périphérique par un petit renflement sphérique ou piriforme colorable aussi par le Gram (pl. V, fig. 3, *c*); quelquefois même, on distingue déjà nettement autour de quelques-

uns de ces renflements claviformes une zone plus ou moins épaisse, présentant les réactions colorantes de la substance des massues (pl. V, fig. 3, *d*, *e*). Ces amas ont un aspect caractéristique, ils représentent évidemment des touffes jeunes ayant résisté à la dissociation.

En résumé, au point de vue du diagnostic microscopique, ce qui caractérise l'affection que nous étudions, c'est la présence dans le pus, à côté d'éléments cocciformes non caractéristiques, de filaments relativement minces, sinueux, simples ou ramifiés, colorables par la méthode de Gram, et de renflements en massue prenant les matières colorantes acides.

III. — Étude des grains parasitaires après inclusion dans la paraffine.

L'étude des coupes fines pratiquées à travers les grains parasitaires inclus dans la paraffine fait connaître leur configuration générale, ainsi que le mode de groupement et les rapports des éléments qui entrent dans leur constitution.

Comme matériel d'étude, nous nous sommes servi de préférence du pus qui renferme plus de grains que les tissus malades. Comme liquide fixateur, nous avons employé le formol à 12 °/₀. L'épaisseur des coupes obtenues ne dépassait pas 1/300e de millimètre.

Pour la coloration, nous avons essayé les différents procédés spéciaux recommandés pour l'étude de l'*Actinomyces*, particulièrement ceux de Babès et de Weigert; mais nous leur préférons, pour sa grande simplicité celui que nous avons indiqué plus haut à propos de l'examen du pus fixé sur lames, et qui n'est autre que la méthode de Gram dans laquelle la décoloration du fond et la coloration des massues se font en un seul temps.

Cette méthode donne la coloration simultanée des filaments et des massues; les premiers sont fortement colorés en bleu, les massues en rouge, le fond en rose pâle. De légères modifications dans la durée des différents temps de l'opération permettent de fixer plus spécialement la couleur sur l'un ou l'autre de ces éléments; une décoloration rapide laisse les filaments fortement colorés, tandis que le contact prolongé de la solution alcool-acétone-rubine-acétique donne aux massues une teinte rouge intense, les filaments prenant un aspect granuleux, et s'arrêtant à l'extrémité effilée des massues.

Enfin, il y a quelquefois intérêt, pour éclairer certains points, à colorer séparément soit les filaments, soit les massues ; la méthode classique de Gram est celle qui convient le mieux dans le premier cas ; pour la coloration exclusive des massues, nous employons de préférence la solution aqueuse de rubine acide qui agit très rapidement et énergiquement.

Les coupes colorées par la méthode mixte montrent :

1° des colonies adultes, c'est-à-dire constituées à la fois par une partie granulo-filamenteuse et des renflements piriformes ;

2° des colonies jeunes, exclusivement filamenteuses ;

3° des éléments libres disséminés dans le pus : filaments courts ou granulations cocciformes.

1° *Colonies adultes.* — Elles se présentent sous des dimensions très variables ; les moyennes ont environ 100 à 200 μ de diamètre ; les plus grosses atteignent jusqu'à 1 millimètre et plus (pl. V, fig. 1, *d*, *c*). Tandis que les grains de dimensions moyennes sont assez régulièrement sphériques, les plus volumineux ont souvent un contour irrégulier et semblent résulter de la fusion de plusieurs colonies. Ce qui frappe immédiatement dans l'aspect des grains adultes, c'est la différence de structure entre la partie centrale granulo-filamenteuse, prenant le Gram, et la zone périphérique, composée presque exclusivement par des massues fortement colorées en rouge et disposées en couronne, autour de la première.

Nous étudierons séparément chacune de ces zones en désignant l'interne sous le nom de *zone germinative* à l'exemple de Boström, et l'externe sous celui de *zone végétative* ainsi que nous la dénommions déjà dans l'actinobacillose.

Zone germinative. — Cette zone occupe une étendue très variable du grain; mais d'une manière générale, on peut dire qu'elle est d'autant plus grande que la colonie est plus âgée. Elle est constituée avons-nous dit par des filaments et des granulations.

Les *filaments* dont nous avons déjà donné plus haut les dimensions et décrit l'aspect général sont enchevêtrés dans la zone germinative d'une façon inextricable et il est très difficile de suivre leur trajet. Une de leurs extrémités se perd au milieu d'un feutrage compacte granulo-filamenteux, l'autre aboutit au voisinage de la zone végétative ou bien pénètre dans l'intérieur d'une massue dont elle semble constituer le squelette ; souvent aussi, les filaments

s'insinuent entre les éléments piriformes et se terminent en dehors de la couronne de massues par un léger renflement.

Nous avons déjà vu comment ces filaments se comportent vis-à-vis des réactifs colorants : il nous suffira d'ajouter que ceux du centre de la touffe sont souvent mal colorés, d'aspect granuleux et montrent une tendance marquée à la désagrégation, ce qui explique la prédominance des éléments cocciformes dans la partie centrale de la zone germinative.

Enfin, à cause de l'enchevêtrement extraordinaire des filaments, il est presque impossible de mettre en évidence, d'une façon nette, dans les coupes, l'existence de ramifications, sauf toutefois dans les parties du mycélium situées au-delà de la zone végétative.

Les *granulations* sont aussi en nombre très variable, elles sont disséminées dans toute l'étendue de la zone germinative, mais sont particulièrement abondantes au centre des vieilles touffes où elles prédominent sur les filaments et forment souvent des amas compacts. Toutes n'ont pas la même forme, ni les mêmes dimensions.

Les unes sont rondes, bien colorées, de 0 µ 6 à 0 µ 8 de diamètre environ et donnent l'impression d'éléments microbiens vivants, de *Coccus* ; les autres ont un diamètre égal à l'épaisseur du filament ou même un peu inférieure à celle-ci, et donnent l'impression de granulations résultant de la désagrégation des filaments ; elles sont d'ailleurs quelquefois disposées en files plus ou moins longues dont le trajet rappelle celui du mycélium.

Zone végétative. — La partie de la touffe que nous désignons sous le nom de *zone végétative* est constituée uniquement par les renflements en massue ; elle forme autour de la zone germinative une sorte de couronne plus ou moins régulière dont les éléments serrés les uns contre les autres, suivant une disposition plus ou moins rayonnée, convergent par leur extrémité effilée vers le centre de la touffe. Les massues qui entrent dans la constitution d'une touffe ont souvent des dimensions très inégales ; elles se présentent parfois comme un simple renflement atteignant 3 ou 4 fois l'épaisseur d'un filament ; d'autres fois, au contraire, elles atteignent un développement véritablement énorme (30 à 40 µ de longueur sur 8 à 10 µ de largeur). Leur forme est en général très régulière : c'est celle d'une poire très allongée dont l'extrémité périphérique est parfaitement arrondie. Dans ces coupes, on ne

rencontre plus en général cette grande variété de formes si remarquable dans les préparations de pus frais ; on n'y distingue ni stries, ni pseudo-stratifications, ni traces de division transversale ou longitudinale. Le protoplasma de la massue est uniformément teinté en rouge par la rubine acide, et l'on ne remarque dans ses parties superficielles aucune trace d'organisation ni de différenciation ; par contre, le centre est occupé par un filament qui tranche par sa coloration bleu foncé sur la substance de la crosse (pl. V, fig. 3, *e*). La direction du filament central est exactement celle de l'axe fictif de la massue ; il en constitue en quelque sorte le squelette et en suit toutes les ondulations. Une de ses extrémités est en continuité directe, sans aucune démarcation, avec un des filaments de la zone germinative ; l'autre quelquefois épaissi et arrondi en boule, s'arrête à quelque distance du pôle périphérique de la massue. La partie centrale du protoplasma de la massue immédiatement en contact avec le filament ne présente aucune particularité de structure. Quelquefois cependant, on remarque au centre de certaines massues une zone ayant conservé plus ou moins bien la coloration bleue du Gram. Cette zone, d'une étendue variable, présente, dans son ensemble, une forme qui rappelle celle de la massue, mais son contour n'est pas marqué par une ligne nette. A première vue, cette particularité pourrait être regardée comme une preuve de l'existence d'une stratification de la substance de la massue en deux ou plusieurs couches superposées ; mais il est facile de se convaincre qu'il ne s'agit là que d'un accident de préparation dû à une insuffisance de la décoloration : d'abord, la coloration de cette zone centrale est diffuse et se réduit parfois à la présence d'un plus ou moins grand nombre de granulations de matière colorante ; son bord est diffus et n'est pas délimité par une ligne nette ; enfin en faisant agir un peu plus longtemps le liquide décolorant, il est facile de le faire disparaître complètement.

Nous croyons inutile d'entrer dans plus de détails au sujet des massues dont l'aspect dans les coupes histologiques a été maintes fois décrit ; nous nous bornerons à répéter ici que la plupart des divergences importantes que l'on rencontre à leur sujet dans divers travaux, sont dues uniquement à la confusion qui a été souvent faite entre les différentes Actinophytoses. Nous dirons

qu'au point de vue du diagnostic histologique, les massues que l'on rencontre dans l'Actinophytose que nous décrivons sont caractérisées par leur aspect raide, leur peu de tendance au bourgeonnement et l'existence *constante* d'un filament central colorable par la méthode de Gram.

2° *Touffes jeunes.* — Sous ce nom nous désignons des touffes composées exclusivement d'éléments filamenteux ; toujours beaucoup plus petites que les grains adultes, elles mesurent environ 40 à 50 μ de diamètre (pl. V, fig. 3, *a*). Les filaments qui les composent sont courts, entrelacés au centre, mais ils conservent à la périphérie une disposition rayonnée assez nette ; ils se colorent intensément par la méthode de Gram et il est assez facile d'y rencontrer des ramifications courtes : leur extrémité périphérique est souvent épaissie notablement ou même pourvue d'un petit renflement en forme de boule ou de poire allongée ; quelquefois aussi, celui-ci est entouré par une très mince enveloppe rouge qui représente la naissance de la massue (pl. V, fig. 3, *b*).

Ces touffes constituent les premiers stades du grain parasitaire. Entre elles et la touffe adulte pourvue d'un feutrage central étendu et de grosses massues, on rencontre nécessairement tous les stades intermédiaires sous forme de petites touffes pourvues de massues à tous les degrés de développement : il serait oiseux d'insister sur ces granulations dont la description ne différerait de celle des grains adultes que par des variations d'étendue des zones germinative et végétative.

3° *Éléments microbiens libres.* — Les éléments microbiens libres que l'on rencontre disséminés dans le pus entre les touffes, sont constitués par des fragments de filaments ou de granulations cocciformes. Les premiers sont en général courts et rares ; on les rencontre ordinairement au voisinage des touffes dont ils semblent issus ; ils ne diffèrent des filaments déjà décrits que par leur peu de longueur, l'absence de ramifications et surtout de renflements terminaux. Les granulations ont environ 0 μ 7 d'épaisseur ; on les rencontre un peu partout dans l'étendue de la préparation, mais le plus souvent elles sont réunies en amas zoogléiques. Elles n'offrent rien de particulier à signaler, et on les prendrait volontiers pour des agents d'infection secondaire (Staphylocoque), si les ensemen-

cements du pus ne donnaient ordinairement une culture pure du microbe spécifique.

Caractères du *Streptothrix Spitzi*.

Morphologie. Cultures. — Le pus recueilli purement au niveau des points fluctuants non encore ouverts spontanément, et ensemencé dans certaines conditions que nous allons indiquer, nous a toujours donné une culture d'un *Streptothrix* présentant un ensemble de caractères morphologiques et biologiques qui le distinguent nettement des *Streptothrix* décrits jusqu'ici et notamment du *Streptothrix actinomyces* classique (1); l'un de nous lui a donné le nom de son collaborateur : *Streptothrix Spitzi*.

Pour l'ensemencement des milieux artificiels, on peut écraser entre des lamelles de verre préalablement stérilisées par le flambage, des grains isolés du pus, y ajouter une goutte d'eau ou de bouillon stérile et ensemencer directement les différents milieux. Mais ce procédé ne donne souvent que des cultures pauvres et il est bien préférable de broyer une assez grande quantité de pus frais dans un mortier stérilisé, puis le diluer avec du bouillon et ensemencer largement avec une pipette.

Les conditions nécessaires à l'obtention d'une culture abondante sont les suivantes :

1° *Nature du milieu.* — Les ensemencements doivent être faits de préférence à la surface d'une gélose légèrement alcaline. Ce milieu convient particulièrement bien pour les isolements ; le microbe y forme, en effet, des colonies bien séparées qu'il est facile de sélectionner. Le développement se fait également bien en bouillon-peptone, mais ce milieu est aussi plus favorable au développement des microbes banals de la suppuration, toujours à craindre dans les produits pathologiques aussi sujets que le pus aux infections secondaires. L'addition au bouillon de petites quantités de sérum de Cheval favorise notablement le développement du *Streptothrix Spitzi*.

Le sérum coagulé est un milieu peu recommandable ; la pomme

(1) Les ensemencements de pus prélevé au début des expériences nous ont presque toujours donné des cultures pauvres du microbe spécifique; dans la suite, celui-ci s'est souvent montré mélangé de microbes d'infections secondaires.

de terre naturelle, ou la pomme de terre glycérinée conseillée pour les cultures d'une foule de *Streptothrix* doivent être complètement rejetées : notre *Streptothrix* n'y pousse que tout à fait exceptionnellement et les cultures y sont toujours très maigres.

2° *Conditions de vie aérobie ou anaérobie.* — Notre *Streptothrix* est un anaérobie facultatif.

Le développement se fait indifféremment en présence de l'air ou dans le vide ; mais il est toujours plus abondant dans les cultures anaérobies et ce dernier procédé est presque indispensable pour conserver le microbe dans les cultures en série, particulièrement sur gélose.

3° *Conditions de température.* — Les cultures ne se font pas à 20-22°, mais bien à l'étuve à 37°. Les premières cultures sont assez délicates et sensibles aux variations de température.

Caractères morphologiques.

Nous avons déjà vu en étudiant le pus, que le microbe s'y présente sous des aspects variés. Ce polymorphisme se retrouve, plus accentué encore dans les cultures.

Dans les cultures jeunes, de 2 à 5 jours, sur gélose ou en bouillon-peptone, les microbes se présentent sous la forme de bâtonnets plus ou moins longs, la plupart droits ou légèrement recourbés et ressemblant assez aux Bacilles de la diphtérie. Souvent une de leurs extrémités est épaissie.

D'autres sont un peu plus courts, leur forme est irrégulière, contournée en S ou recourbée en virgule brève. Enfin, on observe fréquemment dans les cultures en bouillon, dans le liquide de condensation des cultures sur gélose et surtout dans les colonies cratériformes de vieilles cultures sur ce dernier milieu, des formes longues, streptobacillaires ou même nettement filamenteuses. Ces dernières sont ordinairement flexueuses et pourvues de courtes ramifications qui se détachent presque à angle droit du filament principal.

Dans les préparations colorées, Bacilles et filaments ont une tendance très marquée à rester groupés en petits amas ressemblant à un fagot ou à un paquet d'épines.

Le *Streptothrix Spitzi* est immobile, aussi bien dans les formes

courtes que dans les formes longues ; il prend bien les matières colorantes d'aniline et reste coloré par la méthode de Gram-Nicolle. Nous n'avons jamais observé, dans les cultures, la formation de spores.

Caractères des cultures

1° *Cultures aérobies*

Gélose. — Sur gélose aérobie, la culture est lente ; on n'observe aucun développement dans les 24 premières heures qui suivent l'ensemencement ; au bout de 48 heures seulement, on commence à distinguer un grand nombre de colonies très fines, à peine perceptibles, transparentes et brillantes, comme des colonies de Streptocoques. L'examen microscopique les montre constituées par des Bacilles prenant le Gram, ressemblant beaucoup aux Bacilles diphtériques et souvent disposés par deux comme ces derniers, en forme de V dont la pointe ne serait pas fermée.

Le 3e jour de la culture, les colonies sont un peu plus grosses ; elles atteignent le volume d'une petite tête d'épingle et ont déjà perdu un peu de leur transparence.

Les jours suivants, elles continuent à s'accroître et deviennent saillantes à la surface de la gélose ; en même temps, il s'est formé dans le liquide de condensation de nombreux petits grains blancs qui se déposent au fond du tube. Vers le 4e, 5e ou 6e jour, la culture a pris un aspect assez caractéristique ; à cette époque, on y rencontre deux sortes de colonies : les plus grosses blanches, opaques, ont une forme circulaire ; le centre présente une petite saillie hémisphérique entourée d'une zone plate : les plus petites, au contraire, sont plus irrégulières ; elles ont les bords saillants un peu crénelés et le centre déprimé, ce qui leur donne un aspect spécial, annulaire ou cratériforme. Peu à peu l'aspect de ces colonies se modifie ; dans les cultures âgées d'une dizaine de jours, elles prennent la forme de petites pyramides blanchâtres, sèches, à base triangulaire ou quadrangulaire, à sommet mousse et à surface plissée d'une façon irrégulière. Quelquefois aussi, mais non toujours, les colonies semblent entrer dans la gélose et y pousser quelques prolongements fins et irréguliers. Malgré leur aspect sec, ces colonies se laissent enlever très facilement avec le fil de platine

et s'étalent bien sur le porte-objet, contrairement au *Streptothrix actinomyces* ou *Actinomyces bovis*.

Cet aspect mamelonné ou cratériforme, blanchâtre et sec des colonies, n'est appréciable que dans les cultures obtenues avec l'ensemencement direct du pus et aussi, à un degré plus accentué encore sur les géloses ensemencées avec une culture en bouillon-peptone. Dans ce dernier cas, il se développe un grand nombre de colonies isolées les unes des autres, elles commencent à être distinctes au bout de 48 heures de séjour à l'étuve et ont acquis tout leur développement vers le 5e ou le 6e jour. A cette époque, on trouve à la surface de la gélose des colonies de dimensions très variables, d'autant plus grandes qu'elles sont moins nombreuses et moins serrées, mais elles présentent toutes l'aspect caractéristique que nous avons décrit (pl. V, fig. 4). Le liquide de condensation n'est pas troublé uniformément ; il contient en suspension un grand nombre de petits grains blancs qui se déposent au fond du tube ou sur ses parois. La culture présente à s'y méprendre l'aspect d'une culture de Bacilles tuberculeux. Comme dans celles obtenues par ensemencement direct du pus, les colonies sont peu adhérentes à la gélose et malgré leur apparence sèche, elles sont fragiles, se laissent enlever et s'écrasent avec la plus grande facilité.

A partir du 6e ou du 7e jour, l'aspect des cultures sur gélose ne se modifie plus sensiblement ; très rarement et sous l'influence de causes indéterminées, les colonies prennent à la longue une teinte qui peut aller du jaune clair au jaune orangé et même au brun.

Les cultures en série sur gélose aérobie sont difficiles au début ; souvent la 2e culture est très faible et la 3e nulle. Aussi, est-il prudent, avant de tenter ces ensemencements successifs, d'habituer le microbe à pousser sur les milieux artificiels par une série de cultures sur gélose dans le vide. Dans les cultures aréobies provenant d'une autre gélose, on n'observe aucun développement dans les deux premiers jours. Le 3e jour seulement apparaît une couche blanchâtre, très mince, formée par la confluence d'un grand nombre de colonies très petites, peu saillantes, ne présentant plus l'aspect caractéristique signalé plus haut ; elles sont moins sèches, plus adhérentes à la gélose ; cependant elles s'écrasent toujours bien et se laissent diluer dans l'eau facilement. Cette culture n'augmente que très peu les jours suivants et n'offre rien de caractéristique.

jamais, pas plus que les premières cultures, elles ne prennent l'aspect de pellicules desséchées ou ne se couvrent d'une efflorescence comme cela s'observe pour d'autres *Streptothrix*.

Bouillon-peptone. — Comme dans les cultures sur gélose, on n'observe aucun développement dans les 48 premières heures qui suivent l'ensemencement. Le 3e jour on constate l'existence d'un grand nombre de grains blanc-grisâtre, très fins, faiblement adhérents aux parois du tube, et d'un dépôt floconneux blanchâtre assez abondant dans le fond. Le milieu n'est pas troublé. Par l'agitation du liquide, les grains se détachent facilement des parois du tube et le dépôt floconneux du fond s'élève en tourbillons qui se dispersent dans le bouillon ; celui-ci prend alors l'aspect d'un liquide renfermant en suspension un précipité albumineux. Par le repos, les amas microbiens ne tardent pas à se condenser de nouveau dans le fond du tube ; au-dessus, le bouillon reste parfaitement limpide. Pendant deux ou trois jours encore, la culture continue à s'accroître ; le dépôt floconneux augmente un peu mais sans changer de caractères, puis l'accroissement s'arrête et la culture conserve cet aspect, sans aucune autre modification pendant plusieurs mois. Jamais on n'observe la formation de voile ni d'anneau.

Contrairement à ce que l'on pourrait supposer, les microbes qui constituent les amas granuleux ou floconneux n'ont pas une forme filamenteuse ; ils sont au contraire courts, diphtériformes, mais ils ont une tendance marquée à conserver, dans les préparations, leur disposition en amas.

Ces cultures en bouillon, dans l'air, n'ont qu'une faible odeur ; leur réaction est nettement acide. Les cultures en série se font assez bien dans le bouillon-peptone et toujours avec les mêmes caractères ; le milieu n'est jamais uniformément troublé, même après un grand nombre de passages.

Bouillon-sérum. — L'addition au bouillon d'une petite quantité de sérum de Cheval ou de Bœuf favorise notablement la culture ; les amas microbiens y sont plus nombreux et prennent un aspect plus floconneux ; le dépôt qu'ils forment dans le fond du tube est par suite plus abondant, mais la culture se comporte pour le reste de la même façon que les cultures en bouillon-peptone ordinaire.

Gélatine. — Les ensemencements sur gélatine, ne donnent pas

de culture à la température ordinaire ou à l'étuve réglée à 20-22°.

A la température de l'étuve à 37°, la culture se fait comme en bouillon-peptone, mais elle est plus abondante. Dans les 2 premiers jours, on n'observe aucun développement ; le 3e jour seulement on constate l'existence d'un dépôt floconneux dans le fond du tube : ce dépôt augmente encore pendant 2 ou 3 jours, puis reste stationnaire. Si alors on place cette culture à une température inférieure à 20-22°, la gélatine se solidifie, à nouveau ; c'est la preuve que le microbe ne digère pas la gélatine.

Sérum coagulé. — La culture sur sérum coagulé de Cheval ou de Bœuf présente, comme sur gélose aérobie, l'aspect d'une mince couche blanchâtre non caractéristique. Dans les cultures âgées (1 mois), le microbe y présente souvent, à côté de formes courtes, bacillaires, des formes filamenteuses, longues, quelquefois sinueuses ou ondulées comme dans le pus, mais non ramifiées.

Le sérum n'est pas liquéfié.

Pomme de terre. — La pomme de terre naturelle, aussi bien que la pomme de terre glycérinée, constituent, comme nous l'avons déjà dit, de très mauvais milieux pour la culture de notre *Streptothrix*. On n'y observe généralement aucun développement ; très rarement cependant, nous avons obtenu par l'ensemencement direct du pus sur la pomme de terre ordinaire (et non glycérinée), une culture faible sous forme de petites colonies blanc-grisâtre, hémisphériques, saillantes et molles, apparues vers le 4e et le 5e jour et que l'examen microscopique nous a montré constituées par un enchevêtrement de filaments prenant le Gram. Jamais d'ailleurs, nous n'avons pu réensemencer avec succès ces petites colonies sur une deuxième pomme de terre.

Cette façon de se comporter sur la pomme de terre, constitue un caractère différentiel important du *Streptothrix* que nous décrivons : elle le sépare radicalement d'une foule de *Streptothrix* pour lesquels la pomme de terre est, au contraire, un milieu de prédilection.

Gélose de Würtz. — La culture y est généralement faible ; cependant, le milieu vire lentement. Il commence à rougir vers le 4e jour ; le changement de couleur n'est complet que 5 ou 6 jours plus tard et la teinte bleue ne réapparaît plus.

Lait. — Le lait, ensemencé largement avec une culture en bouillon,

se coagule très lentement ; la coagulation commence dans le fond du tube vers le 5e ou le 6e jour, quelquefois plus tard ; elle n'est complète qu'après une semaine environ. Il se forme un caillot blanc qui n'a pas de tendance à se dissoudre ; le liquide qui le surmonte est plus ou moins louche et de *réaction nettement acide.*

Bouillon pancréatique. — Mêmes caractères qu'en bouillon-peptone ordinaire, il n'y a pas formation d'indol.

Thé de foin. — La culture s'y fait assez bien et dans les mêmes conditions qu'en bouillon-peptone, sous forme de petits grains et surtout de flocons qui se déposent dans le fond du tube et sur ses parois.

Cultures sur œuf. — Les cultures dans l'œuf dur sont peu abondantes ; elles ne présentent rien de particulier. On y trouve le microbe ensemencé, sous la forme de bâtonnets en général courts (forme bacillaire) légèrement épaissis ou non à une extrémité, ou de filaments courts ; pas de formes ramifiées nettes. En somme, le microbe présente dans ces cultures la même morphologie que sur gélose.

Ex. : Le 24 mars 1903, trois œufs durs sont ensemencés, les deux premiers à l'aide du fil de platine avec une culture sur gélose dans le vide, le troisième à la pipette avec une culture en bouillon dans le vide.

1° Un des œufs ensemencés avec la culture sur gélose est ouvert après huit jours d'étuve. On retrouve facilement la trace d'ensemencement sous l'aspect d'une traînée légèrement grisâtre, non ramollie, mais dégageant une odeur spéciale.

L'examen du grattage de cette traînée montre, après coloration par la méthode de Gram, de très nombreux microbes, presque exclusivement sous la forme de bacilles courts et de coccus ; quelques bacilles sont très gros, renflés à une extrémité ou dans leur milieu (formes d'involution) : les formes filamenteuses sont très rares, non ramifiées et relativement courtes. Sous tous ces aspects le microbe reste bien coloré.

2° Les deux autres œufs sont ouverts le 3 juin 1903. La coquille enlevée, l'œuf paraît ratatiné, un peu desséché par son séjour à l'étuve ; le jaune est dur, d'aspect un peu cartilagineux. On retrouve difficilement la trace d'ensemencement, mais au centre du jaune, dans l'œuf ensemencé à la pipette, on rencontre un petit

foyer de ramollissement, d'odeur forte, spéciale au microbe. L'examen microscopique de la bouillie recueillie à ce niveau montre de nombreux microbes, presque tous sous forme de bacilles courts et fins : on rencontre aussi quelques formes filamenteuses relativement courtes, non ramifiées, mais d'aspect granuleux et mal coloré, on trouve enfin de nombreuses granulations prenant le Gram.

Même résultat à l'examen de l'œuf ensemencé avec la culture sur gélose, sauf l'absence du foyer de ramollissement dans le jaune.

Cultures anaérobies.

Gélose. — Dans le vide, la culture sur gélose se fait un peu plus vite qu'en présence de l'oxygène; elle est aussi plus riche. En 24 heures, il n'y a encore aucune culture appréciable, mais, dès le 2e jour, on observe l'apparition d'un grand nombre de colonies punctiformes, translucides, brillantes, à peine visibles; le liquide de condensation n'est pas trouble, mais il s'y forme un dépôt pulvérulent. Le 3e jour, elles sont déjà beaucoup plus nettes ; elles atteignent la grosseur d'une tête d'épingle, quelques-unes davantage ; elles sont rondes, légèrement saillantes à la surface de la gélose, encore brillantes, d'aspect humide, mais déjà blanchâtres et un peu opaques. Les jours suivants, les colonies continuent à s'accroître; au bout de 4 ou 5 jours, elles sont arrivées à leur complet développement. Elles ont alors des dimensions très variables. Les plus grandes en général isolées et développées dans la partie inférieure de la gélose, atteignent 2 à 3 millimètres de diamètre ; elles sont de forme circulaire, blanches, opaques, légèrement saillantes à la surface de la gélose, brillantes, d'aspect humide, elles n'ont aucune tendance à entrer dans le substratum, se laissent enlever très facilement et s'étalent très bien sur les porte objets. En même temps, le dépôt microbien du liquide de condensation a augmenté et pris un aspect floconneux.

A partir de cette époque, la culture conserve à peu près les mêmes caractères, les colonies cessent de s'accroître ; la seule modification que l'on puisse observer est la production (non constante), au centre des plus grosses colonies isolées, d'une petite élevure hémisphérique qui reste en général peu saillante. Jamais, si longtemps que l'on conserve la culture dans les conditions de la vie anaérobie, les colonies ne prennent cet aspect sec et pulvérulent

de couleurs diverses que l'on observe si fréquemment chez un grand nombre de *Streptothrix* ; jamais non plus elles ne prennent l'apparence cratériforme qui donne aux cultures *aérobies* une certaine ressemblance avec les cultures des Bacilles tuberculeux.

Contrairement à ce que l'on observe dans les cultures aérobies, les cultures en série avec gélose sont faciles dans le vide ; dès le 2e jour on voit apparaître un grand nombre de colonies très fines et transparentes, analogues à des colonies de Streptocoques; le 3e jour elles sont un peu plus grosses, opaques et généralement assez nombreuses pour se confondre par leurs bords et former une couche blanche d'aspect muqueux, humide, se laissant enlever facilement par le fil de platine et étaler sur les lames. L'épaisseur de cette culture augmente encore pendant 2 ou 3 jours, puis reste stationnaire; elle ne subit plus aucune modification et ne présente rien de spécial. En même temps que s'est développée la couche muqueuse à la surface de la gélose, il s'est formé au fond du tube un dépôt microbien pulvérulent ou floconneux qui ne trouble pas uniformément le liquide de condensation.

Ces cultures anaérobies, sur gélose, dégagent une odeur désagréable rappelant celle de l'acide sulfhydrique.

Bouillon. — Les cultures en bouillon dans le vide présentent les mêmes caractères que les cultures aérobies. Le développement y est seulement plus rapide et plus abondant. Il est déjà évident dès le 2e jour et se manifeste par la présence d'un grand nombre de petites colonies ressemblant à des grains de sable fin, en suspension dans le bouillon ou déposés au fond du tube sur les parois. Au bout de 4 jours la prolifération cesse ; à cette époque, presque toutes les colonies sont descendues au fond du tube où elles forment un dépôt blanchâtre d'aspect floconneux; au-dessus le liquide reste parfaitement limpide.

L'addition de sérum favorise notablement la culture : les colonies qui s'y développent sont plus volumineuses et ont un aspect plus floconneux que dans le bouillon-peptone ordinaire.

Comme dans les cultures sur milieux solides, les cultures en bouillon dégagent une odeur spéciale qui rappelle à la fois celle de l'acide sulfhydrique et celle de certains fromages. La réaction du milieu n'est pas changée. Les cultures en série se font très facile-

ment, à la condition de pratiquer les réensemencements tous les 5 ou 6 jours.

Gélatine. — A la température ordinaire du laboratoire ou à l'étuve à 20-22°, on n'observe aucun développement. Les tubes de gélatine maintenus à l'étuve à 37° poussent, au contraire, abondamment; on y voit apparaître dès le second jour après l'ensemencement, des colonies d'aspect floconneux, blanchâtres, qui se déposent au fond du tube où elles forment une couche épaisse. Deux jours plus tard, le développement est complet et la culture persiste avec le même aspect pendant un temps indéfini. La gélatine se solidifie de nouveau lorsqu'on place les cultures à une température inférieure à 20° : le *Streptothrix Spitzi* ne la liquéfie donc pas.

Lait. — La culture s'y fait plus facilement qu'en présence de l'oxygène; la coagulation commence ordinairement à la fin de la 1re semaine de séjour à l'étuve; elle est complète quelques jours plus tard; mais la durée de ces périodes est sujette à d'assez grandes variations.

La réaction du lait est acide et le coagulum ne change pas d'aspect quelle que soit la durée de l'observation.

Gélose de Würtz. — Le développement s'y fait comme sur la gélose ordinaire; le milieu vire très lentement.

Pomme de terre. — Les ensemencements, dans le vide, sur la pomme de terre naturelle, aussi bien que sur la pomme de terre glycérinée restent stériles.

2° *Vitalité des cultures*
Résistance aux agents physiques et chimiques

Le *Streptothrix Spitzi* est un microbe fragile; il est très sensible aux variations de température et de milieu.

Nous avons déjà dit que les premières cultures se faisaient bien à la température de l'étuve à 37°, sur la gélose et en bouillon, dans le vide ou en présence de l'oxygène. Il est plus difficile d'obtenir une 2me culture de bouillon aérobie à bouillon aérobie et surtout de gélose à gélose. Il est possible, cependant, d'habituer le microbe à pousser dans ces conditions, mais il est nécessaire de pratiquer des réensemencements fréquents, par exemple tous les 3 jours. Les cultures en série dans le vide sont au contraire faciles, à la condition de pratiquer les réensemencements tous les 5 ou 6 jours.

Les cultures anaérobies sur gélose ont généralement perdu la faculté de pousser à nouveau au bout de 8 ou 10 jours ; les cultures en bouillon sont notablement plus résistantes.

Notre *Streptothrix* ne forme pas de spores dans les cultures ; il est tué par un séjour de quelques minutes à une température de 80 à 100°.

Il est également très sensible à l'action des divers agents antiseptiques (sublimé, formol, phénols et dérivés).

Inoculations

1° Bovidés

Inoculation intra-veineuse. — L'inoculation *intra-veineuse* de cultures en bouillon ou de dilutions de cultures sur gélose est en général bien supportée ; elle détermine seulement, le jour de l'injection, quelques troubles généraux accompagnés d'une légère élévation de la température, qui disparaissent au bout de 2 ou 3 jours.

L'autopsie des animaux sacrifiés un ou deux mois plus tard, ne décèle aucune lésion pouvant se rapporter à l'inoculation.

Inoculation sous-cutanée. — L'inoculation *sous-cutanée* donne toujours un résultat positif, aussi bien avec des cultures en bouillon ou sur gélose de *Streptothrix* récemment isolé de l'organisme, qu'avec des cultures entretenues sur les milieux artificiels par des ensemencements en série (15e passage). L'inoculation se traduit par la formation d'un foyer purulent qui évolue en quelques jours (6-8 jours) et dont le contenu rappelle absolument le pus de la maladie spontanée. Le lendemain de l'injection, on note, au point d'inoculation, l'existence d'une tuméfaction œdémateuse du volume d'un œuf, chaude, diffuse, gardant facilement l'empreinte du doigt. Les jours suivants, cette tumeur augmente de volume, devient plus saillante et plus ferme à la palpation, ses bords sont mieux délimités ; en même temps, le centre se ramollit peu à peu : vers le 6e ou le 8e jour, on commence à y percevoir un peu de fluctuation ; au bout de 10 à 12 jours, la zone œdémateuse périphérique a complètement disparu ; la tumeur est uniformément fluctuante dans toute son étendue et la ponction donne issue à un pus blanchâtre, bien lié, épais, crémeux, d'odeur particulière, désagréable.

A première vue, on n'y distingue pas de grains ; cependant l'examen microscopique de préparations fraîches y montre des amas de filaments enchevêtrés et renflés en massue à leur extrémité périphérique. L'étude des préparations colorées par la méthode de Gram est particulièrement intéressante ; elle montre l'existence de nombreux filaments de toutes dimensions, quelquefois très longs, légèrement flexueux ou sinueux, conservant le Gram. Beaucoup de ces filaments sont ramifiés ; d'aures portent à une de leurs extrémités un petit renflement en boule coloré de la même façon que le filament ; enfin, quelques-uns de ces renflements sont eux-mêmes entourés d'une petite zone rouge particulièrement nette dans les préparations colorées par le procédé spécial que nous avons indiqué plus haut. Comme dans les préparations fraîches, ces filaments sont groupés en amas irrégulièrement enchevêtrés, dans lesquels il est impossible de ne pas reconnaître le début de la granulation typique dont nous avons déjà donné la description.

Les ensemencements de ce pus donnent des cultures pures du *Streptothrix* inoculé, et les inoculations peuvent être reproduites en série.

Une fois l'abcès ponctionné et le pus évacué, la lésion diminue progressivement et finit par disparaître sans autre intervention.

2° Mouton

Le Mouton, de même que le Bœuf, supporte bien l'inoculation intra-veineuse des cultures de *Streptothrix Spitzi* ; par contre, il se montre, lui aussi, réceptif à l'égard de l'inoculation sous-cutanée.

Comme chez le Bœuf, celle-ci détermine, au point d'inoculation, la formation d'un abcès qui évolue en 8 ou 10 jours et dans le pus duquel on trouve des touffes filamenteuses avec des renflements en massue, petits mais très nets.

La marche de la lésion est à peu près la même que chez les Bovidés : le lendemain, on observe au point d'inoculation, la production d'une tuméfaction inflammatoire, du volume d'un œuf de Poule à celui du poing d'un Homme adulte, œdémateuse, chaude, sensible à la palpation, à bords mal délimités. Les jours suivants, cette tuméfaction se circonscrit peu à peu, en même temps que sa consistance devient plus ferme ; vers le 5e ou le 6e jour, quelquefois un peu plus tard, on perçoit au centre un commencement de fluc-

tuation ; celle-ci s'accentue de plus en plus et du 8e au 10e jour, la lésion est arrivée à son complet développement ; ses caractères cliniques sont alors ceux d'un abcès froid, mou. A cette époque, la ponction livre passage à un pus épais, crémeux, de couleur blanc-verdâtre, d'une faible odeur difficilement définissable mais assez caractéristique. Ce pus se laisse étaler facilement entre lame et lamelle; il montre un grand nombre de petits grains blancs, mous, faciles à écraser. L'addition d'une goutte de glycérine picro-carminée à la préparation, montre qu'à ces grains correspondent de petites touffes de filaments fins, réfringents, se colorant faiblement par l'acide picrique et pourvus à leur extrémité périphérique de renflements en massues très nettes, mais petites et mal colorées. Le centre des touffes est occupé par des granulations et des filaments entrelacés d'une façon confuse. L'examen du pus, après fixation et coloration par la méthode de Gram, montre un assez grand nombre de *Coccus* disséminés dans toute l'étendue de la préparation et surtout des formes bacillaires ou filamenteuses isolées ou réunies en amas irréguliers ; beaucoup de ces éléments présentent à une extrémité, un épaississement protoplasmique ou même un petit renflement en boule ; le tout reste bien coloré par le Gram.

La lésion actinophytaire expérimentale du mouton tend d'elle-même vers la guérison spontanée ; une fois ponctionnée, elle diminue rapidement de volume, s'indure et se résorbe en 10 ou 15 jours sans laisser de trace ou seulement une légère induration du tissu conjonctif sous-cutané et une cicatrice au point de ponction. L'abcès livré à lui-même sans ponction, suit une marche analogue, mais beaucoup plus lente ; la résorption n'est complète qu'un mois et demi à deux mois environ après le début de l'expérience.

Comme chez les Bovidés, le pus prélevé au moment de la ponction de l'abcès expérimental et ensemencé dans les conditions requises, donne une culture pure du *Streptothrix* inoculé et la lésion peut être reproduite en série.

3° Cheval

Le Cheval est peu sensible au *Streptothrix Spitzi*.

L'*inoculation intra-veineuse* est en général bien supportée ; elle ne

provoque aucun trouble immédiat quand on n'injecte que de petites quantités de cultures (5 à 20 centimètres cubes de culture en bouillon, ou dilution d'une gélose) ; à l'autopsie des animaux sacrifiés 2 ou 3 mois après l'inoculation, on ne retrouve aucune lésion s'y rapportant.

L'*inoculation sous-cutanée* détermine la formation d'un abcès qui évolue rapidement. Comme chez le Bœuf et le Mouton, la lésion se traduit les premiers jours qui suivent l'inoculation par la production d'une tuméfaction inflammatoire, d'abord œdémateuse, puis plus ferme, qui se ramollit peu à peu ; vers le 8e jour, quelquefois avant, on commence à percevoir la fluctuation ; celle-ci est générale vers le 10e jour. A ce moment, la ponction donne écoulement à un pus blanc, bien lié, de consistance pâteuse. Le pus évacué, l'orifice de ponction se cicatrise et la lésion se résorbe en quelques jours sans laisser de traces.

Dans le pus, examiné à l'état frais, nous n'avons pas rencontré de touffes comme dans le pus du Bœuf et du Mouton, ni même d'amas microbiens. L'examen après coloration au Gram nous a donné également des résultats négatifs, et les ensemencements pratiqués sur les milieux favorables avec le pus recueilli à la ponction, sont restés stériles. On en peut déduire que, chez le Cheval, la phagocytose s'exerce d'une façon très active et rapide à l'égard de notre *Streptothrix*.

4° Porc

Inoculation intra-veineuse. — L'inoculation intra-veineuse est bien supportée, même lorsqu'on injecte des doses relativement considérables (5-10 centimètres cubes de cultures en bouillon aérobies ou anaérobies, — dilution de 4 ou 5 cultures sur gélose anaérobies). Elle ne détermine, le jour même de l'inoculation qu'une hyperthermie légère et très fugace ; dès le lendemain, les animaux sont complètement rétablis et ne paraissent nullement souffrir des conséquences de l'injection.

Inoculation sous-cutanée. — L'inoculation sous-cutanée détermine en 24 heures la formation, au point d'inoculation, d'une tuméfaction œdémateuse du volume d'une noix ou d'une petite pomme, étalée, diffuse, chaude et un peu sensible à la pression ; les jours suivants, la tuméfaction s'étale, se fait de moins en moins

saillante ; au bout de 5 ou 6 jours, elle s'est résorbée sans avoir abouti à la formation de pus.

5° Chien

L'*inoculation intra-veineuse* ne détermine aucun symptôme apparent et, à l'autopsie des animaux sacrifiés entre 10 jours et un mois après le début de l'expérience, on ne rencontre aucune lésion.

L'*inoculation sous-cutanée* provoque dans les 24 heures la formation d'un léger œdème inflammatoire qui se résorbe en quelques jours sans aboutir à la suppuration.

6° Lapin

L'*inoculation intra-veineuse* est supportée parfaitement. A l'autopsie des animaux sacrifiés au bout d'un temps variable après l'inoculation (15 jours à 2 mois), on ne rencontre aucune lésion imputable au *Streptothrix*.

L'*inoculation sous-cutanée* provoque la formation, au point d'inoculation, d'une tuméfaction d'abord œdémateuse, puis dure, de consistance fibreuse, qui peut atteindre le volume d'une noisette, mais qui se résorbe spontanément sans avoir abouti à la suppuration.

Inoculation dans le péritoine. — Si l'on place aseptiquement dans le péritoine des petits cubes de culture sur gélose, on détermine la production dans cette cavité, de foyers purulents plus ou moins étendus, avec adhérences des anses intestinales. Ces lésions ressemblent beaucoup à celles que produit l'inoculation intra-péritonéale de cultures d'Actinobacille chez le Cobaye.

En même temps qu'évoluent ces lésions, l'animal maigrit progressivement, cesse de manger et meurt cachectique dans un laps de temps d'environ un mois. Dans le pus, on ne trouve pas de grains de massues, mais seulement des Bacilles courts, des Coccus et de rares filaments non ramifiés.

7° Cobaye

Inoculation intra-péritonéale. — Le Cobaye supporte bien les inoculations intra péritonéales des cultures aérobies ou anaérobies en bouillon ou sur gélose, même à des doses considérables (3 centimètres cubes de culture en bouillon rendue homogène par

l'agitation, ou la dilution d'une gélose). L'autopsie des Cobayes sacrifiés de 15 jours à un mois après l'inoculation montre qu'ils sont indemnes de lésions.

L'inoculation sous-cutanée détermine la production d'une tuméfaction œdémateuse qui se résorbe en quelques jours sans donner de pus.

L'inoculation dans la cavité péritonéale du cobaye de fragments de culture de gélose (cubes de 1^{cc} environ), détermine la production d'un foyer de péritonite purulente qui évolue lentement, reste localisé et ne détermine pas de troubles généraux notables. Dans le pus blanc, crémeux de la lésion, l'examen microscopique dévoile la présence d'une grande quantité de microbes inoculés, exclusivement sous l'aspect de bâtonnets courts, souvent renflés à une extrémité. Pas de formes filamenteuses ou ramifiées, ni de massues véritables.

8° Rat

Inoculation intra-péritonéale. — L'inoculation intra-péritonéale de faibles doses (1/4 à 1/2 centimètre cube de cultures en bouillon anaérobies) ne détermine aucun trouble; l'inoculation de doses plus fortes (2 centimètres cubes de culture en bouillon), détermine des troubles généraux assez accentués; l'animal est triste, inappétent, il se tient immobile dans sa cage, il a de la diarrhée; mais ces symptômes durent peu et au bout de 4 ou 5 jours le sujet revient à la santé; si on le sacrifie 15-20 jours après l'inoculation, l'autopsie ne révèle aucune lésion.

Inoculation sous-cutanée. — L'inoculation sous-cutanée détermine seulement la formation, au point d'inoculation, d'une petite tuméfaction œdémateuse qui se résorbe complètement en 2 ou 3 jours.

9° Souris blanche

L'inoculation intra-péritonéale est bien supportée ; elle ne détermine pas de lésions.

L'inoculation sous-cutanée détermine, au point d'inoculation, une tuméfaction d'abord œdémateuse qui se densifie peu à peu, devient dure et atteint la grosseur d'un pois, mais elle se résorbe spontanément sans donner de pus.

10° Oiseaux

La Poule et le Pigeon se sont toujours montrés, au cours de nos expériences, réfractaires aux inoculations de notre *Streptothrix*.

L'injection *intra-veineuse* de cultures en bouillon, aussi bien que de dilutions de cultures sur gélose (aérobies ou anaérobies) ne détermine aucun trouble appréciable et à l'autopsie des sujets sacrifiés de 15 jours à 2 mois après les inoculations, on ne trouve aucune lésion.

L'*inoculation sous-cutanée* détermine la formation, au point d'inoculation, d'un petit œdème qui se résorbe en 24 heures sans laisser de traces.

Place du *Streptothrix Spitzi* dans la classification

Dans un travail d'ensemble communiqué en avril 1903 au Congrès de Médecine de Madrid, nous nous sommes suffisamment étendus sur cette importante question ; aussi nous contentons-nous de donner ici les conclusions suivantes :

Le *Streptothrix Spitzi* appartient à notre groupe du *Streptothrix Israëli* dont il est très voisin ; il se distingue complètement de l'*Actinomyces bovis* (Harz) ou *Streptothrix actinomyces* (Rossi-Doria), si bien étudié par Boström (1).

APPENDICE

Inoculations. — 1° Bovidés

Inoculation intra-veineuse. — Veau n° 168, un an, reçoit le 1er avril 1902, dans la veine jugulaire, 10 centim. cubes de culture en bouillon (anaérobie de 48 heures, Bacilles courts), rendue bien homogène par l'agitation. Quelques heures après l'inoculation, l'animal paraît malade ; la rumination est suspendue, l'appétit est nul, la respiration est accélérée ; le soir, la température atteint 40 2.

Le lendemain, l'appétit est encore un peu diminué, mais les diverses fonctions sont normales. T. : 39 5.

Le 3 avril, l'animal a repris les apparences de la santé. T. : 39°5. La température suivie pendant près d'un mois à partir de ce jour n'a montré que de légères oscillations.

Le 5 juin, l'animal présente encore tous les signes de la santé ; il est sacrifié par effusion de sang.

(1) Voyez notre mémoire intitulé : *Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'Actinomycose.*

A l'autopsie, on ne trouve aucune lésion notable.

Inoculation sous-cutanée. — 1° Vache, 6 ans, tuberculeuse, reçoit le 20 mars 1902, sous la peau, en arrière de l'épaule droite, un centimètre cube de culture de 5 jours, en bouillon, dans le vide.

Le soir de l'injection, T. : 39°.

Le 21 mars, il existe, au point d'inoculation, une tuméfaction de la grosseur d'un œuf de Poule, peu saillante à la surface de la peau, un peu chaude et sensible, très œdémateuse, gardant l'empreinte du doigt, à bords mal délimités, et accompagnée d'un œdème déclive de l'étendue de la largeur de la main.

Le 22, la tumeur a un peu augmenté d'étendue, tout en conservant les mêmes caractères que la veille. Température normale.

Le 23, la consistance de la tuméfaction est un peu plus ferme; ses bords sont mieux délimités; l'œdème déclive a diminué.

Le 25, la tumeur est plus ferme, moins œdémateuse; elle est mieux délimitée, de la grosseur d'un œuf de Poule, allongée de haut en bas, adhérente à la peau, roulant au contraire sur les côtes, toujours un peu sensible.

Le 17, mêmes caractères : l'œdème déclive a complètement disparu.

Le 28, on commence à percevoir, au centre, un peu de fluctuation.

Le 29, la fluctuation est plus nette. La ponction livre passage à un pus blanchâtre, inodore, épais, crémeux, d'apparence homogène, sans grains visibles à l'œil nu.

L'examen microscopique de ce pus, à l'état frais, après addition d'une goutte de glycérine picro-carminée, montre des amas de Bacilles groupés en fagots ou de véritables petites touffes dont le centre est d'aspect granuleux et la périphérie composée de filaments réfringents, à double contour faiblement colorés par l'acide picrique. Beaucoup de ces filaments sont épaissis dans une grande partie de leur étendue, d'autres sont nettement renflés à leur extrémité périphérique, mais il n'y a pas encore de massues adultes. L'examen du pus écrasé entre deux lames de verre et coloré par la méthode de Gram, après fixation, montre des détails intéressants de la morphologie des éléments microbiens. On y distingue : 1° des éléments cocciformes ; 2° des Bacilles libres, courts et grêles, analogues à ceux que l'on rencontre dans les cultures jeunes; 3° des formes filamenteuses minces, longues, sinueuses, facilement décolorables par l'action prolongée de l'alcool-acétone et prenant alors un aspect granuleux. Peu de filaments libres sont ramifiés; par contre, on les rencontre fréquemment groupés et enchevêtrés en amas irréguliers qui ont échappé à la dissociation. Beaucoup des filaments qui constituent ces petites touffes possèdent à leur extrémité périphérique des renflements sphériques ou allongés en forme de poire, constitués par de véritables épaississements du corps microbien dont ils présentent les réactions colorantes. Il est impossible de ne pas reconnaître dans ces amas filamenteux, des touffes jeunes non encore parvenues à leur complet développement, mais présentant déjà

tous les éléments de la granulation adulte. Cet examen montre aussi l'origine des massues par épaississement de l'extrémité périphérique du protoplasma filamenteux. A cette période de l'évolution, il n'existe généralement pas encore — dans le plus grand nombre de massues naissantes —, de revêtement à réaction acidophile qui constitue presque toute la substance de la massue adulte, mais on la trouve cependant déjà nettement dessinée, dans quelques-unes, sous forme d'une zone mince formant autour du renflement bleu une sorte de liseré rouge et représentant très probablement une hypertrophie de la membrane d'enveloppe du filament.

Les cultures aérobies et anaérobies du pus broyé et ensemencé sur gélose et en bouillon ont permis de retrouver le *Streptothrix* inoculé, à l'état de pureté.

Le 30, à la suite de la prise de pus, la tuméfaction a diminué de volume; un filet de ce pus s'écoule encore par l'orifice de ponction.

Le 31, le pus est presque totalement évacué, la lésion n'atteint plus que le volume d'une noix; elle est dure dans presque toute son étendue; elle est manifestement en voie de résorption.

Le 1er avril, elle a encore diminué de volume : la résolution est rapide.

Quelques jours plus tard, la guérison est complète et définitive, sans autre intervention.

2° Veau, 1 an, inoculé le 1er avril 1902, sous la peau, en arrière de l'épaule gauche, avec 10 c. c. de culture de 48 heures, en bouillon, dans le vide (culture provenant du pus de l'inoculation précédente).

Le lendemain, au point d'inoculation, tuméfaction rouge, chaude, sensible, œdémateuse, du volume du poing, étalée sur les côtes et mal délimitée.

Le 3, la tumeur augmente encore un peu, tout en conservant son caractère œdémateux.

Le 4, sa consistance est un peu plus ferme au centre; ses bords sont peu marqués, mais elle est toujours chaude et sensible à la palpation; œdème déclive de la largeur de la paume de la main.

Le 5, la consistance de la tumeur est encore un peu plus ferme que la veille; ses bords se délimitent de mieux en mieux; l'œdème déclive a diminué.

Le 7, la lésion est bien délimitée, saillante, du volume du poing, adhérente à la peau, mobile au contraire à la surface des côtes; le centre est de consistance pâteuse, et donne l'impression de la phase de ramollissement qui précède la formation du pus; la périphérie est plus ferme; encore un peu d'œdème déclive.

Le 8, on perçoit au centre un commencement de fluctuation.

Le 10, la fluctuation est très nette; l'œdème déclive s'est entièrement résorbé.

Les jours suivants, la fluctuation s'accentue et se généralise; le 15, elle est perceptible dans toute l'étendue de la tumeur; au centre elle est superficielle.

Le 19, la peau est très amincie au centre de la lésion; le pus semble prêt à faire issue à l'extérieur.

Le 21, l'ouverture spontanée de l'abcès est imminente. La ponction est pratiquée et le pus recueilli aseptiquement dans des pipettes. Il est légèrement jaunâtre, crémeux, visqueux, homogène, montant facilement dans les pipettes, et dégageant une odeur spéciale faible, rappelant un peu celle des cultures.

L'examen macroscopique ne permet pas d'y constater l'existence de grains visibles.

L'examen microscopique, à l'état frais, après addition d'une goutte de glycérine picro-carminée y décèle la présence d'amas de filaments groupés en fagots et enchevêtrés, se colorant très faiblement par l'acide citrique; beaucoup de ces filaments sont épaissis légèrement ou renflés à une extrémité; ce sont de petites touffes en voie d'évolution.

L'examen du pus après fixation et coloration par la méthode de Gram, montre, comme dans le cas précédent, des *Coccus* disséminés dans toute l'étendue de la préparation et surtout de nombreux filaments de toutes dimensions, mais, en général, assez longs et flexueux, souvent groupés en amas irréguliers, mal colorés et granuleux; beaucoup sont ramifiés d'une façon très nette (en général une seule ramification), ou portent à une extrémité un renflement en boule. Ces renflements sont dus à un véritable épaississement du protoplasma microbien; ils restent en effet colorés par la méthode de Gram, souvent même plus énergiquement que le corps du filament qui leur a donné naissance. Enfin, malgré les manœuvres de la préparation, beaucoup de filaments sont restés groupés en petits amas irréguliers analogues à ceux que l'on observe dans le pus de la maladie spontanée.

Les phénomènes consécutifs à la ponction de l'abcès ont été très simples; ils ont abouti à la résorption rapide et totale de la lésion.

3° Le même animal est inoculé le 21 avril 1902, sous la peau, en arrière de l'épaule droite, avec 3 centim. cubes de culture en bouillon de 24 heures, dans le vide.

Le 22, au point d'inoculation, petite tuméfaction œdémateuse, beaucoup moins considérable que celle qui résultait de la première inoculation.

Les jours suivants, la tumeur suit une marche parallèle à celle décrite dans l'observation précédente : elle se densifie peu à peu, tout en diminuant de volume; le 30, elle est bien délimitée; sa grosseur est celle d'une noix; elle est dure, fibreuse à la périphérie; au centre, on perçoit difficilement un peu de fluctuation. La ponction donne une très petite quantité de pus crémeux, homogène à première vue, mais montrant après écrasement entre lame et lamelle de petits grains non calcaires.

L'examen du pus frais, après addition d'un peu de glycérine picro-carminée, fait voir parmi les leucocytes une grande quantité de touffes parasitaires dont le centre est occupé par un feutrage épais de filaments peu distincts et par des granulations nombreuses. Les filaments qui émer-

gent du centre des touffes sont très réfringents, très faiblement colorés par l'acide picrique, sinueux et souvent épaissis à leur extrémité périphérique; *on observe aussi la présence de véritables renflements en massues, petits, mais caractéristiques.*

A l'examen après coloration par la méthode de Gram et fuschine acide, on voit un grand nombre de filaments présentant les caractères déjà décrits précédemment, sinueux, souvent ramifiés, quelques-uns, porteurs d'une petite massue.

Quelques jours après la ponction de l'abcès, la lésion est complètement résorbée.

4° Veau, 1 an, inoculé le 22 avril 1902, sous la peau, en arrière de l'épaule droite, avec 3 centimètres cubes de la même culture que dans l'exemple précédent (bouillon anaérobie de 24 heures).

Le lendemain, au point d'inoculation, tuméfaction œdémateuse du volume d'un œuf de Poule.

Le 23 et le 24, cette tumeur augmente de volume ; sa consistance devient un peu plus ferme ; le 25, elle est grosse comme le poing d'un homme, dure au centre, encore œdémateuse à la périphérie.

Le 30, elle a doublé de volume; elle est fluctuante dans presque toute son étendue. La ponction livre passage à une grande quantité de sérosité huileuse, de couleur citrine, contenant en suspension de petits caillots blanchâtres. Cette sérosité se coagule rapidement; examinée à l'œil nu, entre lame et lamelle, on y distingue parfaitement la présence de petits grains très fins, très fragiles, que l'examen microscopique montre être formés par des agglomérations énormes de Bacilles courts, sans massues ni renflements. L'examen après coloration ne fait que confirmer ces faits : il montre des Bacilles fins, de la longueur et de l'aspect du Bacille diphtérique dans les fausses membranes, restant souvent groupés en amas malgré les manœuvres de la préparation; pas de formes filamenteuses, pas de massues, ni même d'épaississements.

Le 1er mai, la lésion, vidée de la plus grande partie de son contenu, a notablement diminué de volume; le centre seul reste un peu fluctuant. Les jours suivants, elle diminue encore et devient de plus en plus dure; le 12 mai, elle ne forme plus qu'une petite tumeur de la grosseur d'une noix, de consistance fibreuse, adhérente à la peau, roulant au contraire sur les tissus sous-jacents; elle se résorbe lentement et spontanément.

5° Vache, 5 ans, tuberculeuse; reçoit le 10 septembre 1902, sous la peau, en arrière de l'épaule gauche, 3 cent. cubes de dilution d'une culture sur gélose, de 3 jours, dans le vide (15^{cc} anaérobie). Le jour de l'injection, pas de troubles généraux, pas de fièvre.

Le lendemain, au point d'inoculation, tuméfaction œdémateuse du volume du poing, un peu chaude et sensible.

Le 12, la tuméfaction a encore augmenté un peu, tout en conservant les mêmes caractères.

Le 13, elle est plus étalée, allongée de haut en bas, un peu plus consistante, mais toujours peu sensible ; à sa surface, la peau est rouge.

Le 15, la tuméfaction présente une consistance plus ferme ; elle est plus saillante ; ses bords sont mieux délimités.

Le 16, le centre commence à devenir pâteux, on devine qu'à ce niveau s'opère la transformation purulente ; il n'y a pas encore de fluctuation nette.

Le 17, on perçoit un peu de fluctuation centrale, profonde.

Le 18, la fluctuation est très nette et perceptible dans presque toute l'étendue de la tumeur.

Le 19 et le 20, même état ; les caractères de la lésion sont alors ceux d'un abcès de la grosseur d'un gros œuf et uniformément fluctuant dans toute son étendue.

La lésion se maintient avec les mêmes caractères jusqu'au 2 octobre : à cette époque elle est du volume du poing ; au centre la peau s'amincit, le pus menace de se faire jour à l'extérieur.

La ponction donne issue à un pus blanc, légèrement verdâtre, crémeux, homogène, d'odeur spéciale rappelant celle du fromage de Roquefort. Il ne renferme pas de grains visibles à l'œil nu, même après écrasement entre lame et lamelle. L'examen microscopique à l'état frais, après addition d'une goutte de glycérine picro-carminée ne montre pas de touffes de massues, mais la coloration par la méthode de Gram y met en évidence la présence d'un grand nombre de *Coccus*, de Bacilles courts colorés en bleu foncé et de quelques formes filamenteuses non ramifiées.

Les ensemencements du pus après trituration dans un mortier stérilisé donnent des cultures du microbe inoculé.

Comme dans les observations précédentes, après l'évacuation du pus, la lésion a évolué rapidement vers la guérison qui est survenue 5 ou 6 jours après.

En somme, le résultat de ces deux dernières expériences montre que notre *Streptothrix* a subi une atténuation notable dans sa virulence, ou que tous les Bovidés ne sont pas réceptifs au même degré vis-à-vis de ce *Streptothrix*.

Mouton

1° *Inoculation intra-veineuse.* — Le 24 mars 1902, un Mouton adulte reçoit, dans la veine jugulaire droite, 10 centimètres cubes d'une culture en bouillon dans le vide (mélange d'une culture de 48 heures et d'une culture de 4 jours).

Quelques heures après l'inoculation, l'animal est triste, inappétent ; la respiration est accélérée. T. : 40°5.

Le lendemain, la santé est complètement revenue ; la température seule reste un peu élevée : 40°3.

Les jours suivants, la température oscille autour de la normale, l'animal ne présente aucun symptôme permettant d'espérer le résultat positif de l'inoculation.

2° *Inoculation sous-cutanée.* — Bélier 151, adulte, reçoit, le 24 mars 1902,

sous la peau, en arrière de l'épaule gauche. 10 centimètres cubes de cultures en bouillon dans le vide. Le soir, T. : 39°8.

Le lendemain, au point d'inoculation, tuméfaction œdémateuse, un peu chaude et sensible, du volume d'un œuf de Poule, mais peu saillante. T. : 40°5.

Le 26, mêmes caractères. T. : 39°5.

Le 27, la tuméfaction a un peu augmenté; elle est dure, de forme oblongue, adhérente à la peau et aux tissus sous-jacents. T. : 39°5.

Le 28, la tumeur est du volume d'une pomme, très légèrement ramollie au centre. T. : 39°6.

Le 29, la lésion commence à diminuer de volume; par contre, le centre est un peu fluctuant. T. 39°8.

Le 31, la fluctuation est très nette dans toute l'étendue de la tumeur.

Le 1er avril, la lésion a le volume d'une noix; elle est très ramollie; la fluctuation est tout à fait superficielle.

Le 2, la ponction permet de recueillir du pus épais, crémeux, assez consistant bien que se laissant facilement écraser entre les doigts; sa couleur est légèrement verdâtre; au simple examen macroscopique, on n'y distingue pas de grains.

L'examen microscopique à l'état frais, après addition d'une goutte de glycérine picro-carminée, y montre de nombreuses touffes de filaments pourvus de massues très petites, se colorant mal par l'acide picrique.

L'examen après fixation sur lame et coloration par la méthode de Gram montre des filaments libres ou enchevêtrés à la façon des ronces d'un fagot, et surtout des formes bacillaires ressemblant au Bacille diphtérique, mais souvent un peu renflées à une extrémité ou d'épaisseur inégale; on rencontre aussi des *Cocci* en assez grand nombre.

Les ensemencements de ce pus sur gélose et en bouillon, ont donné des cultures pures du microbe inoculé.

Après la ponction, la lésion a évolué progressivement vers la guérison. Le 8 avril, elle a la grosseur d'une noix, elle est encore fluctuante, superficielle, saillante à la surface de la peau qui est très amincie à ce niveau. Sa résorption est lente; le 26 avril, il ne reste plus de visible qu'une cicatrice en retrait et une petite induration du tissu conjonctif sous-cutané.

Cheval

1° *Inoculation intra-veineuse.* — Le 1er avril 1902, un vieux Cheval reçoit en injection, dans la veine jugulaire, 10 centimètres cubes d'une culture aérobie de 48 heures, en bouillon.

L'injection ne détermine pas de troubles immédiats; le soir, on n'observe qu'une légère élévation de température; le lendemain, la température est redevenue normale et les jours suivants elle ne subit que quelques oscillations insignifiantes.

L'animal est sacrifié par effusion de sang le 6 juin, c'est-à-dire un peu plus de deux mois après l'inoculation. A l'autopsie, on ne rencontre aucune lésion digne de mention.

2° *Inoculation sous-cutanée.* — Le 1er avril 1902, un vieux Cheval reçoit, sous la peau de l'encolure, 10 centimètres cubes de la même culture que dans l'observation précédente.

Le lendemain, au point d'inoculation, on constate l'existence d'un œdème de la largeur de la paume de la main, peu épais et peu sensible, à bords assez bien délimités.

Le 3, l'œdème est plus fondu sur les bords, mais il présente au centre, au point même d'inoculation, une tuméfaction plus saillante, un peu plus ferme, chaude et sensible à la palpation.

Le 4, la tuméfaction locale a augmenté; elle est de la grosseur d'une pomme, chaude, de consistance plus ferme que l'œdème qui l'entoure, mais conservant cependant encore l'empreinte du doigt.

Le 7, la lésion a la largeur de la paume de la main ; elle est plus étalée que les jours précédents, moins saillante, chaude, sensible, de consistance pâteuse; l'œdème périphérique a complètement disparu.

Le 8, au centre de la tuméfaction, on commence à percevoir un peu de fluctuation.

Le 9, la fluctuation est nette; à la ponction, il sort une petite quantité de pus blanc, épais, mélangé d'un peu de sang.

L'examen microscopique du pus à l'état frais ou après fixation sur lames et coloration par la méthode de Gram, ne décèle ni touffes, ni filaments. Les ensemencements restent stériles.

Le lendemain de la ponction, les dimensions de la lésion ont beaucoup diminué; les jours suivants, elle se résorbe rapidement; le 12 avril, il ne persiste plus, au point d'inoculation, qu'un léger empâtement qui ne tarde pas lui-même à disparaître.

Porc

1° *Inoculation intra-veineuse.* — Le 25 mars 1902, une jeune Truie de 8 mois reçoit, en injection dans une veine de l'oreille, 12 centimètres cubes de culture très riche, de 48 heures, en bouillon dans le vide.

Deux heures après, on note quelques tremblements et un malaise général qui ne tarde pas à se dissiper. Le soir, T. : 39°5.

Le lendemain, l'animal est complètement rétabli ; la température est normale; T. : 38°5; suivie pendant près d'un mois, elle ne subit plus que des variations insignifiantes.

26 mars	T. : 38°5	1 avril	T. : 39°4
27 »	38°6	2 »	39°
28 »	38°1	3 »	38°8
29 »	38°6	4 »	39°
30 »	38°4	5 »	38°8
31 »	39°	6 »	38°5

2° *Inoculation sous-cutanée.* — Le 25 mars 1902, un Porcelet de 8 mois reçoit sous la peau, à la base de l'oreille gauche, 12 centimètres cubes de culture en bouillon de 48 heures, dans le vide.

Pas de symptômes généraux immédiats.

Le lendemain, au point d'inoculation existe une tuméfaction inflammatoire du volume d'un œuf de Pigeon, diffuse, œdémateuse, chaude et douloureuse à la palpation.

Le 26, la tuméfaction a un peu diminué ; elle est moins sensible à la pression.

Le 27, son volume est encore plus réduit ; sa consistance augmente légèrement ; elle est un peu pâteuse, mais ne donne pas encore la sensation de fluctuation.

Les jours suivants, le volume de la tumeur continue à diminuer progressivement ; le 30, elle est à peine grosse comme une noisette ; elle ne renferme pas de pus.

Le 1er mai, la lésion est résorbée ; la place qu'elle occupait n'est plus marquée que par un léger empâtement sous-cutané qui se résorbe lui-même rapidement.

Lapin

1° *Inoculation intra-veineuse.* — 1° Lapin adulte, reçoit le 20 mars 1902, en injection dans la veine marginale de l'oreille, 3 centimètres cubes de culture en bouillon de 5 jours, dans le vide (après agitation pour rendre la culture homogène).

L'animal supporte l'inoculation sans manifester aucun trouble le jour même ni les jours suivants. Le 26 avril, l'animal très gras et en parfaite santé est sacrifié par effusion de sang ; à l'autopsie, on ne rencontre aucune lésion.

2° Lapin 161, adulte, reçoit le 10 septembre 1902, dans la veine marginale de l'oreille, 2 centimètres cubes de la dilution, dans 5 centimètres cubes d'eau, d'une culture anaérobie sur gélose. Aucun trouble consécutif.

L'animal est gardé en observation deux mois, pendant lesquels sa santé ne subit aucune altération. Il est sacrifié le 11 novembre ; à l'autopsie on ne trouve pas de lésions.

2° *Inoculation sous-cutanée.* — Lapin adulte, reçoit le 20 mars 1902, sous la peau de la cuisse droite, 2 centimètres cubes de culture en bouillon de 5 jours, dans le vide.

Le lendemain, léger engorgement œdémateux au point d'inoculation et au niveau des ganglions du pli de l'aine.

Cet œdème diminue peu à peu ; le 27, il est complètement résorbé, mais on perçoit profondément, au niveau de l'arcade crurale, une petite tumeur dure, roulante et insensible ; le 8 avril, cette tumeur est grosse comme une noisette ; elle ne donne nullement la sensation de fluctuation. Elle ne subit aucune modification jusqu'au 2 mai, date à laquelle elle est extirpée ; la dissection montre qu'il s'agit d'un ganglion lymphatique hypertrophié, infiltré, mais non suppuré. L'examen microscopique n'y décèle d'ailleurs pas la présence de microbes inoculés.

Guérison rapide et normale de la plaie opératoire.

Inoculation intra-péritonéale de fragments de culture sur gélose. — Ex. : Le 8 avril 1903, un Lapin adulte reçoit, dans le péritoine, 2 cubes de culture

sur gélose anaérobie de 1cm environ chacun. Dans les premiers jours qui suivent l'opération, l'animal ne présente rien d'anormal : d'abord un peu triste, il se remet rapidement ; les plaies opératoires se cicatrisent par première intention.

Les jours suivants, on note de l'amaigrissement : l'appétit est mauvais d'abord, puis bientôt à peu près nul ; l'animal prend dans sa cage une position particulière ; il se tient immobile, les pattes rassemblées, le dos voûté, le ventre très levretté ; la paroi abdominale est rétractée, dure, sensible à la pression.

Le 23 avril, à la palpation, on sent au niveau de la plaie opératoire, mais profondément, une tuméfaction dure, allongée, de 2cm de longueur environ, du volume du petit doigt, non adhérente à la peau, adhérente au contraire à la paroi abdominale. On sent avec difficulté à la face interne de cette dernière, la présence d'autres lésions du volume d'une noisette ou d'une petite noix, ronde, également adhérentes au péritoine pariétal, ou au contraire mobiles, roulantes.

L'animal est sacrifié le 24 avril 1903.

Autopsie. — Maigreur accentuée.

La plaie cutanée est complètement cicatrisée ; à ce niveau, la peau est souple, non adhérente aux parties sous-jacentes ; la plaie de la paroi abdominale est également fermée.

Pas de lésions dans la cavité thoracique.

Les seules lésions siègent dans la cavité abdominale ; elles sont très importantes et consistent dans la présence de foyers purulents de dimensions très variables : les plus petites sont du volume d'un grain de mil ou d'un grain de chènevis, disséminés le long de la courbure du gros colon, irréguliers, d'apparence tuberculiforme : leur paroi mince est constituée seulement par le péritoine ; leur section les montre formées par un pus bien lié, crémeux, blanc ; quelques-uns de ces foyers disséminés à la surface du mésentère, rappellent à s'y méprendre les lésions de l'Actinobacillose péritonéale du Cobaye.

Dans le flanc droit, le gros colon adhère à la paroi abdominale sur une grande étendue au moyen d'une nappe épaisse de tissu d'apparence fibreuse, infiltré d'un grand nombre de vaisseaux sanguins. Au centre de ce tissu inflammatoire, on trouve deux grands foyers purulents, l'un de la grosseur d'une noix, l'autre de celle d'une noisette. Un troisième foyer purulent également de la grosseur d'une noisette et délimité par une sorte de coque fibreuse mince et peu résistante, siège à la surface du péritoine viscéral, au niveau du point d'union des divers replis du gros colon. A la section de cette lésion, comme des précédentes, il sort un pus blanc, épais, crémeux, homogène, d'odeur infecte rappelant celle des fromages de Roquefort, sans grains visibles.

Enfin, la face interne de la cicatrice de la paroi abdominale présente elle aussi de petits foyers purulents, d'apparence de tubercules ; la face externe ne présente rien d'anormal.

Dans toutes ces lésions purulentes, l'examen microscopique n'a pas montré de touffes de massues, mais après coloration par la méthode de Gram, les microbes inoculés, sous forme de nombreux bacilles courts, de coccus et de quelques rares filaments non ramifiés.

Les cultures ont donné le microbe inoculé, avec des impuretés (coli, staphylocoque).

Cobaye

1° *Inoculation intra-péritonéale.* — Cobaye adulte. Le 20 mars 1902, injection intra-péritonéale de 2 centimètres cubes de culture en bouillon de 5 jours, dans le vide.

Aucun trouble consécutif. L'animal conserve toutes les apparences de la santé, ne maigrit pas.

Il est sacrifié un mois après l'inoculation ; l'autopsie ne révèle aucune lésion.

2° *Inoculation intra-péritonéale de fragments de cultures sur gélose.* — Ex. : Le 8 avril 1903, un Cobaye reçoit dans le péritoine, après laparotomie, un cube de 1 centimètre de culture sur gélose anaérobie de 3 jours (1re culture avec le pus recueilli à l'autopsie du bœuf atteint de la maladie spontanée).

Les suites de l'opération sont simples : quelques jours après, les plaies sont cicatrisées ; mais bientôt à ce niveau apparaît, sur la peau, une tuméfaction qui, d'abord un peu œdémateuse, devient plus dure, puis se ramollit peu à peu.

Le 23 avril, la tuméfaction, du volume d'une noisette, est nettement fluctuante dans toute son étendue ; elle donne issue à un pus blanc crémeux renfermant une grande quantité de microbes inoculés, uniquement sous la forme bacillaire, les formes les plus courtes sont souvent renflées à une extrémité, un peu effilées à l'extrémité opposée, ce qui leur donne l'aspect d'une raquette ou d'une larme batavique. Pas de véritables massues ni de formes ramifiées.

Au même niveau, mais plus profondément, on sent également à la palpation la présence d'une autre tuméfaction, également fluctuante, et adhérente à la paroi abdominale.

Autopsie. — L'animal est sacrifié le 24 avril 1903. L'état d'embonpoint est bon : l'animal semble avoir peu souffert des suites de l'inoculation.

Les différents organes de la cavité pectorale sont sains. Dans la cavité péritonéale, on trouve au niveau de la plaie opératoire, une adhérence d'une anse d'intestin grêle à la paroi abdominale ; cette adhérence de 2cm de longueur environ est constituée par un tissu inflammatoire fibreux, au centre du quel on trouve un foyer purulent en communication avec l'abcès sous-cutané au niveau des points de suture profonds. Le pus de cet abcès est blanc grisâtre, de consistance crémeuse, d'aspect homogène. L'examen microscopique y montre l'existence de nombreux bacilles de même aspect que ceux de la lésion superficielle. Les ensemencements de ce pus ont donné des cultures pures du microbe inoculé.

Rat

1° *Inoculation intra-péritonéale.* — Rat blanc, reçoit le 5 avril 1902, une injection intra-péritonéale de 2 centimètres cubes de culture en bouillon aérobie de 48 heures.

Le 6, l'animal est triste, inappétent; il se tient immobile dans sa cage, le poil hérissé.

Le 7 et le 8, même état, un peu de diarrhée.

Le 9, l'amélioration commence; l'animal se rétablit rapidement. Il est sacrifié au bout d'un mois. A l'autopsie, pas de lésions.

2° *Inoculation sous-cutanée.* — Le 5 avril 1902, un petit Rat blanc reçoit sous la peau 1 centimètre cube de culture en bouillon aérobie de 24 heures.

En deux jours la culture se résorbe sans laisser de trace.

Le 20 avril, on constate l'existence d'une petite tumeur dure, roulante, insensible, dans la région du pli du flanc.

L'extirpation montre qu'il s'agit d'un ganglion lymphatique hypertrophié, induré. mais ne présentant pas d'autre altération.

EXPLICATION DE LA PLANCHE V

Fig. 1. — Coloration des grains actinophytiques dans le pus frais (picro-carmin).

Fig. 2. — Différents aspects des massues colorées dans le pus par le picro-carmin.

Fig. 3. — *a*, touffe de filaments dans le pus expérimental du Bœuf (coloration par la méthode de Gram; quelques-uns seulement sont renflés à une extrémité; *b*, touffe de filaments pourvus presque tous d'un renflement terminal en boule; l'un d'eux montre aussi une légère zone rouge, entourant le renflement terminal; on y reconnaitra facilement la naissance d'une massue (coloration : Gram et fuschine acide); *c*, filament isolé pourvu d'un renflement terminal en boule (coloration de Gram); premier stade de la massue; *d*, filament isolé avec renflement piriforme (deuxième stade de la massue); *e*, filament avec renflement piriforme prenant le Gram et zone rouge acidophile (coloration : Gram et fuschine acide); *f*, massue laissant voir à son intérieur le trajet du filament simple auquel elle appartient; le filament se termine dans la massue sans épaississement notable (coloration : Gram et fuschine acide); *g*, massue dans laquelle le filament central se termine par un petit renflement; aspect moins fréquent que le précédent (même méthode de coloration); *h*, massue dans laquelle le filament central est terminé par un gros renflement en boule (même méthode de coloration); *i*, massue avec filament central granuleux, aspect fréquent quand la décoloration a été poussée un peu trop loin; *j*, massue appartenant à un filament ramifié (même coloration); *k*, filament dont les trois ramifications sont terminées par des massues; *l*, massue montrant une zone centrale granuleuse, colorée par le violet de Gram et donnant l'illusion d'une stratification de la substance de la massue; défaut de préparation par insuffisance de décoloration (méthode : Gram et fuschine acide).

Fig. 4. — Culture du *Streptothrix Spitzi* sur gélose.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Fr. G. Clemow, *The geography of disease.* Cambridge, University Press, 1903, in-8° de XV-624 p. avec cartes et tracés hors texte. Prix, cartonné : 15 shellings (18 fr. 75).

Cet ouvrage fait partie des « Cambridge Geographical series », publiés sous la direction du Dr F.-H.-H. Guillemard. L'auteur est médecin de l'Ambassade anglaise à Constantinople; il a voyagé et a beaucoup observé. Aussi était-il préparé à entreprendre et capable de mener à bien une œuvre aussi difficile que celle qui consiste à écrire un traité de géographie médicale.

Malgré des lacunes, qui tiennent à l'obligation de faire court, et qui portent plus spécialement sur les Helminthes, ce livre est tout à fait recommandable; il est clair, méthodique et au courant des questions nouvelles. Après un premier chapitre sur les facteurs qui déterminent la distribution géographique des maladies, l'auteur étudie chacune de celles-ci en particulier. Elles sont présentées dans leur ordre alphabétique : aïnhum, béribéri, blackwater fever (fièvre bilieuse hématurique), calculs, cancer, etc. Les trois premiers de ces noms (et nous pourrions en énumérer bien d'autres) montrent qu'une large part revient à la pathologie exotique; il serait même plus exact de dire que l'ouvrage tout entier est consacré à cette branche si intéressante des sciences médicales.

Le second chapitre est consacré aux maladies de la peau. Le craw-craw, l'ulcère oriental, le phagédénisme, la pinta, le tokelau, la verruga et la frambœsia sont successivement l'objet d'une étude brève mais substantielle. Puis vient un chapitre, beaucoup trop sommaire à notre avis, sur les animaux parasites et les maladies qu'ils déterminent. Ces dernières pages ont été écrites en Turquie, loin de toute bibliothèque; leur brièveté tient sans doute à cela. La seconde édition mettra les choses au point.

On a certainement compris que le livre du Dr Clemow est une œuvre sérieuse, appelée à rendre de grands services aux médecins de la marine et des colonies, ainsi qu'aux explorateurs et aux voyageurs; il est assez peu hérissé d'explications et de termes techniques pour que ceux-ci puissent y trouver aussi leur compte. Les cartes de distribution des principales maladies exotiques (béribéri, bilieuse, choléra, fièvre de malte, etc.) sont d'une lecture facile; on peut simplement regretter qu'elles ne soient pas plus nombreuses.

Ed. Nocard et E. Leclainche, *Les maladies microbiennes des animaux.* Paris, Masson et Cie, 3e édition, 2 vol. grand in-8° de 1315 p. Prix : 22 fr.

Le célèbre ouvrage des deux éminents professeurs d'Alfort et de Toulouse est déjà parvenu à sa troisième édition : on ne saurait donner

une meilleure preuve de l'excellence et de la haute utilité de ce livre, dont l'Académie des sciences a consacré le mérite, en lui décernant le prix Monthyon (1898).

Nous avons longuement rendu compte de la deuxième édition (II, 321-324); nous n'avons donc pas à faire de nouveau cet exposé. Nous devons toutefois noter que cette nouvelle édition a été l'objet d'une révision complète; tous les chapitres ont été transformés et l'on ne retrouve qu'une faible partie du texte primitif. L'ouvrage, notablement augmenté, est publié en deux volumes. Cet accroissement est dû uniquement à l'extension incessante du domaine de la pathologie microbienne. Nombre de sujets nouveaux ont été traités; nous citerons parmi eux : la *pasteurellose du Cheval*, le *typhus du Chien*, les *pasteurelloses du Veau*, la *peste du Cheval*, la *peste aviaire*, les *pseudo-tuberculoses*, l'*actinobacillose*... et surtout les « maladies à Hématozoaires » : *piroplasmoses* et *maladies à Trypanosomes*.

Le caractère et l'ordonnance du livre n'ont pas été modifiés. Les auteurs nous ont donné, cette fois encore, une étude synthétique complète et documentée des infections animales, envisagées à la fois au point de vue de la clinique, de l'étiologie, de l'étude expérimentale et de la prophylaxie. Des centaines de travaux ont été consacrés, en ces dernières années, aux maladies microbiennes et des progrès importants ont été réalisés. On en trouvera dans cet ouvrage un résumé concis et fidèle. Indispensable au vétérinaire, ce livre sera aussi d'une grande utilité au médecin qui voudra étudier les nombreuses maladies microbiennes communes à l'homme et aux animaux.

Beobachtungen und Untersuchungen über die Ruhr (Dysenterie). Die Ruhrepidemie auf dem Truppenübungsplatz Döberitz im Jahre 1901 und die Ruhr im Ostasiatischen Expeditionskorps. Berlin, A. Hirschwald, grand in-8° de 160 p. avec 8 pl. et figures dans le texte, 1902. Prix : 10 marks (12 fr. 50).

Sous le titre de *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens*, la Direction du Service de santé de l'armée prussienne publie, depuis 1892, d'intéressantes monographies sur les diverses questions relatives à la médecine et à l'hygiène militaires. Ces monographies paraissent à des époques indéterminées. Le mémoire, ou plutôt la série de mémoires que nous analysons ici, constituent la 20ᵉ monographie.

En 1901-1902, la garnison de Döberitz, près Berlin, eut à souffrir de la dysenterie : on constata 369 cas, dont 10 furent mortels. Vers la même époque, il parvenait à la Direction du Service de santé des documents touchant une épidémie de dysenterie qui avait sévi parmi les troupes du corps d'occupation en Chine : 862 hommes avaient été atteints, dont 37 succombèrent, soit 4,3 %. Ces observations ont été le point de départ d'études parasitologiques dont nous devons rendre compte.

On a trouvé dans l'épidémie de Döberitz un Bacille spécifique, qui a une grande valeur au point de vue du diagnostic. De par sa morphologie,

sa biologie, son aptitude à l'agglutination, etc., il se montre identique aux Bacilles déjà décrits au Japon par Shiga, dans l'Allemagne occidentale par Kruse, aux Philippines par Flexner; tout au plus, le Bacille de Flexner est-il une race ou une variété distincte. Le Bacille en question est particulier à la dysenterie; il ne se rencontre jamais dans aucune autre maladie, non plus que chez des personnes saines; il était extrêmement abondant à Döberitz, ainsi que dans l'ouest de l'Allemagne.

A côté de la dysenterie ainsi caractérisée, on en doit distinguer une autre dans laquelle pullulent les Amibes, mais où les Bacilles spécifiques manquent totalement. Tel est le cas pour la dysenterie chronique d'Extrême-Orient : c'est cette maladie particulière qui sévissait parmi les troupes allemandes en Chine; c'est elle que Councilman et Lafleur ont si bien étudiée en Amérique; on l'observe aussi parfois en Allemagne. Les Amibes sont alors les agents pathogènes spécifiques : elles existent en abondance, à l'exclusion de tout Bacille de Shiga, comme ce dernier existait dans l'autre forme de dysenterie à l'exclusion de toute Amibe. Les Amibes recueillies dans les déjections de trois soldats revenant de Chine étaient extrêmement pathogènes pour le Chat et causaient à coup sûr une violente entérite amibienne.

Les travaux qui nous occupent constituent donc une importante contribution à l'étude de la dysenterie; ils sont signés Buttersack. Pfuhl, Schmiedicke, von Drigalski et Jürgens. Ils sont accompagnés de bonnes planches en couleurs montrant la structure des Amibes, ainsi que les lésions produites expérimentalement par celles-ci dans le gros intestin du Chat; par comparaison, on a aussi représenté les lésions observées dans la dysenterie bacillaire de Döberitz.

NOTES ET INFORMATIONS

Nécrologie. — Le D[r] G. Nepveu, professeur d'anatomie pathologique à l'Ecole de médecine de Marseille, est mort dans cette ville, le 29 avril 1903. Ancien interne des hôpitaux de Paris, ancien chef du laboratoire de la clinique chirurgicale de la Pitié (service du professeur Verneuil), ancien professeur à l'Ecole de médecine d'Alger, il a eu une existence des plus laborieuses.

Dès 1869, il constatait l'existence des Bactéries dans le sang des plaques d'érysipèle; plus tard, mais avant Pasteur, il signalait que les lésions de la rage se localisent au système nerveux.

C'est à lui également que revient le mérite d'avoir observé pour la première fois des Trypanosomes dans le sang humain, en Algérie. Cette importante découverte date de 1891, puis fut confirmée en 1898 : elle passa tout d'abord inaperçue, mais on en comprend maintenant toute l'importance (1). — R. Bl.

***Ascaris canis* de taille extraordinaire**. — L'*Ascaris canis* (Werner, 1782), vulgo *A. mystax* (Zeder, 1800) est de taille assez variable. La variété canine, sensiblement plus grande que la féline, est longue de 50 à 90[mm] pour le mâle et de 90 à 120 pour la femelle, mais celle-ci peut atteindre, d'après Railliet, jusqu'à 180[mm] ; l'œuf est large de 75 à 80 μ. Or, cet Helminthe peut atteindre une taille beaucoup plus considérable.

Le D[r] A. Loir, ancien Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis, m'a rapporté de Buluwayo (Rhodesia), neuf *Ascaris canis* parfaitement caractérisés, recueillis par lui dans l'intestin des chiens du pays. Six de ces Vers ont la taille habituelle; les trois autres sont des femelles très grandes, mesurant respectivement 202, 235 et 242[mm] ; les œufs, sans leur enveloppe albumineuse, sont sphériques et larges de 75 à 80 μ, exactement comme chez les individus européens. Ces Helminthes sont conservés au Laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine (collection R. Blanchard, n° 817). — R. Bl.

Congrès colonial de 1903. — Il s'est, paraît-il, réuni à Paris, au commencement d'avril 1903, un Congrès colonial : la septième section, présidée par M. le Professeur G. Treille, ancien Inspecteur général du Service de santé des colonies, était consacrée à l'hygiène et à la médecine.

(1) G. Nepveu, Etude sur les parasites du sang chez les paludiques. *Mémoires de la Soc. de biol.*, p. 39-50, 1891. — Sur un Trypanosome dans le sang de l'homme. *Ibidem*, p. 1172, 1898.

Dans le premier de ces mémoires, on lit à la page 48 cette simple phrase : « Les autres (corps flagellés) forment une masse triangulaire offrant un flagellum à chaque angle (fig. 17 et 18). » Des deux figures citées, la première doit être en effet interprétée comme représentant un Trypanosome, interprétation qui se trouve confirmée par la description moins sommaire du parasite qui fut donnée par Nepveu en 1898.

Sans autre commentaire, constatons que ni l'Académie de médecine, ni la Faculté de médecine, ni l'Institut de médecine coloniale, ni les *Archives de Parasitologie*, ni le Laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine, ni aucune des personnalités du monde médical parisien qui auraient eu intérêt à prendre part à ce Congrès et dont l'intervention eut sans doute été fort utile à celui-ci, n'ont été prévenus de la prochaine réunion du Congrès et n'ont été invités à y participer. C'est donc uniquement par les brefs comptes-rendus publiés dans les journaux politiques que nous avons pu prendre connaissance des travaux accomplis par la septième section. Moins exclusif que les organisateurs de cette dernière, nous signalerons, en raison de leur importance, les quatre vœux suivants, qui ont été adoptés chacun à l'unanimité :

1° *Vœu proposé par M. le Dr* G. TREILLE. — Le Congrès colonial de 1903 (section d'hygiène), constatant que le paludisme et la fièvre jaune sont transmis par les Moustiques, émet le vœu qu'il soit procédé à la destruction de ces Insectes dans un rayon aussi grand que possible autour des habitations.

Cette destruction doit s'opérer :

1° Par l'assèchement du sol ;

2° Par la fermeture hermétique de tous récipients contenant de l'eau ;

3° Par l'épandage de l'huile de pétrole à la surface des petites mares.

Dans les pays où la destruction des Moustiques n'aura pas été opérée. le Congrès conseille la fermeture de toutes les ouvertures des habitations au moyen de treillis métalliques.

2° *Vœu proposé par M. le Dr* COURANGEAU, *de l'Institut Pasteur de Nha Trang* (*Annam*). — Le Congrès colonial, considérant que les épizooties menacent gravement les intérêts de nos colonies, émet le vœu que nos colonies soient pourvues de vétérinaires spécialisés au service colonial et initiés aux délicates recherches de laboratoire qui concernent les maladies contagieuses.

3° *Vœu proposé par M. le Dr* VINCENT, *médecin inspecteur des troupes coloniales, correspondant de l'Académie de médecine, et par M. le Dr* SALANOUE-IPIN, *médecin-major des troupes coloniales.* — Considérant que l'isolement absolu des malades constitue le seul moyen efficace d'empêcher l'extension d'une épidémie naissante de fièvre jaune ; que le traitement à domicile ou dans les hôpitaux ordinaires n'offre, à cet égard, aucune garantie, le Congrès appuie la proposition de MM. VINCENT et SALANOUE-IPIN, relative à la création immédiate, dans les centres les plus importants de nos colonies exposés à ce fléau, de pavillons spécialement aménagés à cet effet, où seraient transportées et traitées *toutes* les personnes atteintes de la maladie dont la diffusion se trouverait ainsi arrêtée.

4° *Vœu proposé par M. le Dr* BUSSIÈRE, *médecin-major des troupes coloniales.* — Considérant les ravages commis annuellement par la variole au Sénégal, dans les établissements français de l'Inde et certaines régions

de l'Indo-Chine, alors que la vaccination, si elle y était généralement pratiquée, supprimerait les manifestations endémo-épidémiques de cette maladie ;

Considérant, en outre, qu'il y a le même intérêt à en rendre l'usage général dans toutes nos colonies.

Émet le vœu que la vaccination obligatoire dans la métropole le soit aussi dans nos possessions d'outre-mer.

Le paludisme dans la Pouille. — Je reviens aujourd'hui de cette dernière ville (Métaponte), ou plutôt de la station qui s'appelle ainsi. Bien plus encore que Tarente, ce n'est qu'un souvenir, et le classique : *etiam periere ruinæ*... dont nous fîmes un tel abus dans nos vers latins de collège, est si implacablement vrai. Métaponte ! Ce nom évoque le souvenir de PYTHAGORE, qui vint mourir là, et celui aussi de la plus riche culture, symbolisée par le bel épi des monnaies incuses frappées sous l'ancienne république, épi de moissons miraculeuses, si élégant, si large, si chargé de grains. — Voici, en regard de cette image lointaine, la réalité actuelle : à peine le train a-t-il quitté Tarente, qu'une plaine commence de s'étendre, indéfinie et déserte. Déserte est la dune sablée que longe la voie et où la mer roule ses lames grises avec sa monotone plainte. Des rivières traversent cette solitude pour aller vers cette mer. Des rivières ? Non. Des lits de cailloux desséchés par l'ardeur du dernier été. Une eau jaunâtre y stagne plutôt qu'elle n'y coule. C'est le royaume de la malaria, de ce fléau dévastateur, représenté, disent certains mythologues, par ces monstres des fables antiques, Hydres, Dragons, ou simples brigands, vaincus par les dieux. Ce monstre de la légende aurait été ici ABYBAS, fondateur légendaire de Métaponte, funeste héros qu'aurait rencontré HERCULE, occupé à ramener à travers l'Italie les Bœufs de GÉRYONS. ABYBAS fut-il l'hôte, fut-il la victime du grand justicier ? Ici les commentateurs diffèrent, quoiqu'ils s'accordent, d'après LENORMANT, à expliquer le nom de Métaponte par le nom du fils de cet ABYBAS, MÉTABOS, — l'enfant né après le passage des Bœufs. — Le document certain, c'est qu'aux temps de la guerre de Sicile, la riche Métaponte aida puissamment le général athénien NICIAS en Hommes, en argent, en provisions. Aujourd'hui elle n'a d'existence que par les neuf lettres peintes sur une enseigne de gare ! Cette gare est, d'ailleurs, assez importante puisqu'elle marque le point de bifurcation pour les voyageurs venus de Naples et qui vont soit vers Reggio, soit vers Tarente et Brindisi. Autour des bâtisses d'exploitation, de pauvres maisons se dressent, six ou sept peut-être. Elles servent à loger les familles des employés, et le personnel des locataires doit être souvent renouvelé, si l'on en juge par le visage de ceux qui vérifient les billets et enregistrent les bagages. Les yeux trop noirs brillent dans des teints trop bistrés. L'imperceptible germe du poison, contre lequel est impuissante la verdure des grands Eucalyptus, court dans les veines épuisées. Les plus récemment arrivés se reconnaissent à la fraîcheur relative de leurs joues et de leurs prunelles. Ce sinistre coloris de mort

n'y est pas empreint au même degré. Mais quoi? L'homme est marié. Il a des charges. Il faut de l'argent. La paye est plus forte. Tel autre a passé là qui n'a pas succombé. Ce sont des précautions à prendre, on les prendra. Le misérable ménage accepte donc la place offerte, et, après quelques années, le démon de la fièvre a fait sa besogne. Tous sont morts ou mourants. Il semble qu'Héraclès, le génie du travail, au lieu de passer par cette plaine pour la rendre comme autrefois habitable et prospère, n'y fasse plus qu'un office de bourreau, et qu'il se venge ainsi du nouveau Dieu dont le culte a succédé au sien. — Paul Bourget, de l'Académie française (1).

Le Collège de Khartoum. — Le nouveau collège de Khartoum, fondé par les Anglais en mémoire du fameux général Gordon Pacha, va être pourvu d'un laboratoire de chimie et de bactériologie. Son directeur est déjà nommé : c'est le Dr Andrew Balfour, d'Edimbourg, que le gouverneur du Soudan vient d'appeler à ce nouveau poste.

Le laboratoire nouvellement créé est destiné à développer l'instruction technique, les recherches bactériologiques et physiologiques sur les maladies tropicales, spécialement sur les maladies infectieuses de l'Homme et des animaux, particulières au Soudan, et à venir en aide aux médecins et aux cliniques des hôpitaux civils et militaires. Il aidera également aux enquêtes au criminel, dans les cas d'empoisonnement, si fréquents au Soudan, par la découverte et la détermination expérimentale des agents toxiques et particulièrement des terribles substances inconnues employées par les indigènes.

La minéralogie, l'agriculture, en un mot tout ce qui pourra aider au développement industriel du Soudan sera l'objet d'études minutieuses de la part de ce laboratoire, qui va être pourvu de l'outillage scientifique le plus perfectionné.

Dans les premiers jours de décembre 1902, un dîner a été offert, à l'Institut des Aquarellistes de Londres, au savant anglais qui se prépare à quitter l'Angleterre. Le président du banquet, M. Wellcomme, a dit que de nombreux candidats distingués s'étaient mis sur les rangs pour la place de directeur du laboratoire de Khartoum, mais qu'aucun n'était aussi spécialement qualifié que le Dr Balfour pour cette grande tâche.

De son côté, le Dr Patrick Manson, a vanté la valeur scientifique de son confrère. L'Afrique, a-t-il dit, subit une révolution pathologique énorme ; elle est loin d'avoir donné tous ses secrets. Le Dr Manson annonce enfin une nouvelle sensationnelle : la découverte, par la mission envoyée dans l'Ouganda par le Foreing Office et l'Ecole de médecine tropicale de Londres, du germe et de la cause de la maladie du sommeil, en anglais *spleeping-sickness*, qui fait d'énormes ravages parmi la population noire de cette région.

(1) P. Bourget, *Sensations d'Italie* (*Toscane, Ombrie, Grande-Grece*). Paris, Plon-Nourrit et Cie, in-18 de 342 p., 1902 ; cf. p. 301-303.

OUVRAGES REÇUS

Tous les ouvrages reçus sont annoncés.

Généralités

In memory of Dr Walter Reed, Major and Surgeon, U. S. Army, Washington, D. C. *Memorial Meeting of the medical Society of the district of Columbia*, in-8° de 21 p., december 31, 1902.

Fr. Alayrac, *L'emploi du sérum de Trunecek en thérapeutique.* Thèse de Paris, in-8° de 99 p., 1903.

Amerlinck, L'Institut de médecine coloniale de Paris. *Bull. de la Soc. de méd. de Gand*, in-8° de 22 p., 1903.

J. Brault, Les religions devant l'hygiène dans les pays coloniaux. *Annales d'hygiene publique et de médecine légale*, in-8° de 36 p., mars 1903.

S. Broïdo, *Les dysenteries. Etude critique.* Thèse de Paris, in-8° de 159 p., 1903.

L. Bruandet, *Infiltration épithéliale expérimentale.* Thèse de Paris, in-8° de 48 p., 1903.

H. Dominici, *Globules rouges et infection.* Thèse de Paris, in-8° de 56 p., 1903.

W. Dowson, *The Wellcome physiological research Laboratories founded 1894.* London, in-8° de 36 p., 1903.

P. Fabre, *Coup d'œil sur la géographie médicale, son passé, son présent et son avenir.* Paris, in-8° de 24 p., 1897.

B. Galli-Valerio, Notices biographiques. — XV. Angelo Dubini. *Archives de Parasitologie*, VII, p. 138-151, 1903.

V. de Giaxa, Contributo alle cognizioni sulla eziologia della pellagra. *Bollettino del Manicomio Fleurent*, XIX, fasc. 1-6, in-8° de 68 p., 3 tab., 1894.

P. Guigues, *Le livre de l'art du traitement de Najm-ad-Dyn-Mahmoud. Remèdes composés, texte, traduction, glossaires précédés d'un Essai sur la pharmacie arabe.* Beyrouth, in-8°, 1903.

A. Jousset, L'inoscopie. *Semaine médicale*, in-8° de 13 p., 21 janvier 1903.

A. Jousset, L'inoscopie. *Arch. de méd. expérim. et d'anat. path.*, XV, p. 289-305, 1903.

A. Kermorgant, Instructions concernant les mesures à prendre contre les maladies endémiques, épidémiques et contagieuses : malaria, fièvre jaune, lèpre, béribéri, tuberculose et alcoolisme, fièvre typhoïde, choléra, peste, variole. *Annexes aux Annales d'hygiène et de médecine coloniales*, in-8° de 94 p., 1903.

L. Lortat-Jacob, *L'iode et les moyens de défense de l'organisme.* Thèse de Paris, in-8° de 103 p., 3 pl., 1903.

L. Raynaud, *Documents sur le nord-ouest africain. Etude sur l'hygiène et la médecine au Maroc suivie d'une notice sur la climatologie des principales villes de l'Empire.* Paris, in-8° de 203 p., 1902.

M. J. Rosenau, Laboratory course in pathology and bacteriology. *Treasury Department, Public Health and Marine-Hopital Service of the United States, Hygienic Laboratory. Bulletin* n° 8, in-8° de 56 p., august 1902.

Santa Maria de Pandi, Report of the Superintendent of Government Laboratories for the year ending august 31, 1902. Appendix M. *War Department, Bureau of insular affairs, Report of the Philippine Commission*, X, p. 545-582, 1902.

Ch. W. Stiles and Al. Hassall, Index-Catalogue of medical and veterinary Zoology. part 2 [Authors : B to Buxton]. *Bureau of animal industry, Bulletin n° 39*, p. 47-198, Washington, 1903.

Protozoaires

Broden, Un cas d'infection du sang chez l'Européen par un Trypanosome. *Travaux du Laboratoire de bactériologie de Léopoldville*, in-8° de 4 p., 12 février 1903.

Broden, Le surra ou maladie de la Tsétsé chez les Bœufs à Léopoldville, Etat du Congo. *Travaux du Laboratoire de bactériologie*, p. 5-7, 15 février 1903.

A. Foa, Studio sui *Cytoryctes vaccinae*. *Rendiconti della R. Accademia dei Lincei*, XII, p. 64-93, 1903.

J. Künstler et Ch. Gineste, Simple remarque sur la constitution du *Balantidium entozoon*. *C. R. Soc. biol., Bordeaux*, II, p. 33, 3 mars 1903.

Ch. W. Stiles, The type species of certain genera of parasitic Flagellates, particularly Grassi's genera of 1879 and 1881. *Zoologischer Anzeiger*, XXV, p. 689-695, 1902.

Ch. W. Stiles, Voge's description of mal de Caderas, a south american trypanosomatic disease of domestic Animals. *Arch., Phila.*, V, 23, n° 9, p. 565-570, 1902.

Hémosporidies et Paludisme

Investigaciones y estudios sobre el paludismo en España. Etudes et recherches sur le paludisme en Espagne. *XIVe Congrès international de médecine*, Madrid-Barcelona, in-8° de 260 p., 5 pl., 1 carte, avril 1903.

Papers relating to the investigation of malaria and other tropical diseases and the establishment of schools of tropical medicine. *Colonies : Miscellaneous*, in-4° de 43 p., june 1903.

G. Alvaro, Contributo alla carta nosografica della Sicilia (malaria-tracoma-vaiuolo). *Congres médical sicilien du 20 mai 1902*. Palermo, in-8° de 35 p., 13 cartes et tableaux, 1902.

Battesti, Compte-rendu de sa situation, de ses opérations et des résultats obtenus au 21 décembre 1902. *Ligue Corse contre le paludisme, fondée à Bastia le 23 mars 1902*.

A. Billet, Sur une espèce nouvelle d'*Anopheles* (*A. Chaudoyei* Theobald) et sa relation avec le paludisme, à Touggourt (sud-constantinois). *C. R. Soc. biol.*, LX, p. 565-567, 9 mai 1903.

R. Blanchard, Qui a vu le premier l'Hématozoaire du paludisme? *Archives de Parasitologie*, VII, p. 152-158, 1903.

A. Bordi, Cotribuzione alla sistematica dei Culicidi con speciale riguardo alla diffusione della malaria umana. *Rendiconti della R. Accademia dei Lincei*, 7 déc. 1902.

J. Brault, Marche de la température dans les formes intermittentes de la malaria dans les pays chauds. *Archives gén. de méd.*, (2), VIII, p 324-342, 1902.

A. Celli, La legislazione contro la malaria. *Biblioteca della critica sociale*, Milano, in-8° de 14 p., 1903.

Le Gérant, F. R. de Rudeval.

Lille. — Typ. & Lith. Le Bigot frères

SUR UNE
BLASTOMYCOSE INTRA-PÉRITONÉALE

PAR

R. BLANCHARD, E. SCHWARTZ et J. BINOT.

(PLANCHE VI)

Le présent mémoire a été communiqué à l'Académie de médecine, dans sa séance du 24 mars 1903 ; il ne diffère de celui qui a paru déjà sous le même titre (1) que par l'addition de la planche VI, des figures dans le texte et de courts passages où nous avons consigné quelques observations ultérieures.

L'observation clinique qui a été le point de départ de ce travail est relative à un malade qui portait dans le péritoine une masse parasitaire très volumineuse, de nature non néoplasique, uniquement constituée par une substance glaireuse englobant des cellules de Levûre. Nous faisons connaître, en outre, les caractères microscopiques et chimiques de la masse parasitaire, les caractères des cultures du Blastomycète et le résultat des inoculations que nous en avons faites à divers animaux.

OBSERVATION CLINIQUE

Le nommé P..., âgé de 30 ans, mécanicien, entre dans le service du Dr Schwartz, à l'hôpital Cochin, le 29 juillet 1901.

Antécédents. — Père mort à 37 ans d'une affection de poitrine chronique ; frère mort d'une pleurésie à 27 ans. Le malade lui-même n'a jamais été souffrant, quoiqu'un peu délicat. A 18 ans, toutefois, il a souffert, pendant six semaines environ, d'une poussée douloureuse dans la fosse iliaque droite : il eut de la fièvre et dut garder le lit ; il semble bien qu'il se soit agi d'une appendicite. Depuis lors, la santé a toujours été très bonne.

Etat actuel. — A la fin de mai 1901, P. commence à ressentir de la gêne dans le côté droit de l'abdomen ; en même temps, il perd l'appétit, maigrit, souffre de constipation et a des digestions pénibles. Cet état allant en s'aggravant, le malade entre à l'hôpital.

(1) *Bulletin de l'Académie de Médecine*, (3), XLIX, p. 415-429, 24 mars 1903.

Le malade étant couché sur le dos, la paroi de l'abdomen présente une forte voussure au-dessous de l'ombilic et dans le flanc droit : la peau n'a pas changé de couleur, les veines superficielles ne sont pas distendues. La palpation permet de constater l'existence d'une masse fluctuante, occupant la moitié droite du ventre et surtout la fosse iliaque droite. La pression au point de Mac Burney est un peu douloureuse. Il n'y a nulle part de douleur. La percussion donne une matité très nette dans toute la fosse iliaque droite et l'abdomen, remontant presque jusqu'à l'ombilic.

La température axillaire n'est que de 37°5. Le pouls est bien frappé, sans fréquence. L'urine est normale. L'examen des sommets pulmonaires ne révèle aucun signe de tuberculose. On penche néanmoins vers le diagnostic de péritonite tuberculeuse avec appendicite de même nature.

Opération. — L'opération est jugée nécessaire; on la pratique le 1er août 1901, sous le chloroforme. La paroi abdominale est incisée suivant le bord latéral du grand droit de l'abdomen. Au moment de l'ouverture du péritoine, apparaît à la ponction une masse de consistance gélatineuse, jaune blanchâtre, de la couleur d'un lipôme fluctuant. Le péritoine, étant largement incisé, laisse écouler une grande quantité de cette matière gélatineuse ; on constate alors qu'elle remplit une poche au milieu de laquelle flottent le cæcum et l'appendice et communiquant par un orifice avec la grande cavité péritonéale qui contient aussi une notable quantité de cette même substance.

On enlève la masse glaireuse aussi complètement que possible. L'appendice est court, violacé, il présente à son extrémité un nodule blanchâtre et adhère par toute sa longueur au cæcum ; on le sépare de ce dernier, puis on le résèque au thermocautère. Deux gros drains sont placés dans l'énorme cavité. Pansement aseptique sec.

Pendant une dizaine de jours, il s'écoule par les deux drains, puis par un seul, de la matière gélatineuse et un peu de sérosité roussâtre. Puis l'écoulement se tarit, la plaie se cicatrise sans suppuration. Le 27 août, le malade est guéri et rentre chez lui. Nous l'avons revu environ un an après l'opération, puis tout récemment encore ; il est en parfaite santé, a repris de l'embonpoint et n'a pas eu de récidive.

EXAMEN PRÉALABLE; LÉSIONS DE L'APPENDICE

La masse gélatineuse extraite du péritoine au moment de l'opération pesait environ un kilogramme ; son volume était d'au moins un litre. Elle fut remise avec l'appendice au laboratoire du Dr Chauffard. On l'y plongea dans l'eau formolée, ce qui eut pour résultat de tuer tous les éléments figurés qui s'y trouvaient inclus et de rendre impossible leur culture éventuelle. Ces éléments figurés furent observés, mais leur véritable nature fut absolument méconnue.

Quant à l'appendice, il fut débité en coupes par M. Rathery, interne de M. Chauffard ; il présentait tous les signes d'une folliculite hypertrophique. Deux des coupes renfermaient chacune un corpuscule jaunâtre en forme de raquette, parcouru longitudinalement par une cloison médiane irrégulière et divisée latéralement par un certain nombre de cloisons de chaque côté (fig. 1, *c*, *d*). Deux autres coupes renfermaient chacune un corpuscule sphérique, clair, à paroi épaisse, celle-ci étant comme crevée en certains endroits par où le contenu finement granuleux faisait hernie (fig. 1, *a*, *b*) ; ces derniers corpuscules avaient une évidente analogie avec ceux qui se trouvaient dans la masse gélatineuse.

La nature de ces divers corpuscules demeurant énigmatique, M. Schwartz prie M. le professeur R. Blanchard de venir voir les préparations en question. Ainsi fut fait : M. Blanchard reconnut qu'il s'agissait de Champignons, les corpuscules du premier type étant des spores pluriseptées, ceux du second type étant des Blastomycètes en voie de gemmation ; les éléments figurés contenus dans la masse gélatineuse n'étaient eux-mêmes autre chose que des Blastomycètes.

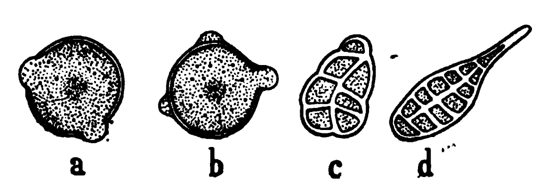


Fig. 1. — Champignons observés sur les coupes de l'appendice. — *a*, *b*, Blastomycètes en voie de gemmation ; *c*, *d*, spores pluriseptées.

Dès lors, il devenait très intéressant de cultiver ces derniers. Ceux de la grande masse glaireuse étaient tués par le formol, mais heureusement les drains rejetaient encore une certaine quantité de matière. Il fut facile d'en recueillir aseptiquement et de l'ensemencer dans différents milieux de culture.

On obtint ainsi d'emblée des cultures pures, au moyen desquelles furent faites les inoculations dont il sera question plus loin. Au contraire, l'étude morphologique du Blastomycète et celle des produits glaireux qui l'accompagnent furent faites, sauf indication contraire, au moyen de la masse abondante extraite du péritoine. Nous présentons à l'Académie un bocal qui renferme environ le tiers de cette masse ; il fait partie des collections du Laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine (collection R. Blanchard, n° 801).

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE LA MASSE GÉLATINEUSE

La masse gélatineuse que renfermait la cavité péritonéale n'est aucunement de nature néoplasique ; de par son aspect et sa consistance, on pourrait la rapprocher de certaines productions myxomateuses ou colloïdes dérivées du tissu conjonctif, mais l'examen microscopique démontre aussitôt qu'il n'y a là qu'une apparence. Ce serait donc commettre une singulière erreur de langage que de désigner sous le nom de « tumeur » cette masse volumineuse, à la production de laquelle l'organisme n'a pris aucune part, en tant que générateur d'éléments histologiques de nouvelle formation : nous discuterons plus loin la part réelle qui revient à l'organisme et nous établirons qu'elle consiste uniquement en des exsudations, sans adjonction d'aucun élément figuré.

La masse glaireuse a une consistance comparable à celle de la gelée de veau ; elle tremblote et se fend aisément en grumeaux de taille plus ou moins considérable et de section irrégulière. Sa coloration est variable suivant les points examinés : ici, elle est blanche ; là, elle est franchement grise. Les zones blanches et grises s'entremêlent irrégulièrement, sans être séparées les unes des autres par des lignes de démarcation bien nettes. Elles ont essentiellement la même structure et l'on doit penser qu'elles correspondent simplement à des périodes où la production de la masse parasitaire se faisait avec des rapidités différentes. Cette masse d'ailleurs s'est formée par assises successives, comme le prouve l'aspect stratifié qu'elle présente.

Examinons par simple écrasement une parcelle prise en un point quelconque de la masse glaireuse ; nous y trouvons les éléments suivants, que nous allons étudier successivement : 1° une substance fondamentale amorphe ; 2° des cellules sphériques ; 3° des filaments ; 4° des globules huileux ; 5° quelques cristaux ; 6° quelques très rares Bactéries.

1° Substance fondamentale amorphe. — Elle constitue la plus grande partie de la masse parasitaire : c'est une sorte de gangue gélatineuse ou glaireuse, dans laquelle sont englobés tous les autres éléments, dans des conditions qui seront précisées plus loin.

Une question se posait à notre esprit : cette abondante substance

fondamentale est-elle élaborée par les Blastomycètes qu'elle renferme ou résulte-t-elle, au contraire, d'une réaction de l'organisme? Pour trancher cette importante question, il nous a semblé que l'analyse chimique nous fournirait de précieuses indications. Nous avons donc fait appel à la compétence de M. Maillard, chef du laboratoire de M. le professeur A. Gautier, et nous avons reçu de lui la note suivante :

« La masse gélatineuse est insoluble dans l'eau, même à l'ébullition prolongée; elle est insoluble dans les acides minéraux de concentration modérée. Les alcalis la dissolvent assez facilement: la potasse à 10 pour 100 fait disparaître les flocons en une demi-heure. A 1 pour 100, la potasse les dissout en quelques heures. Les carbonates alcalins paraissent dépourvus d'action, même au bout de plusieurs jours. Par contre, l'eau de chaux dissout lentement les flocons (il faut au moins 2 jours), et c'est ce réactif qui semble altérer le moins la substance.

» Les flocons ont été dissous dans la potasse à 1 pour 100, qui ne laisse subsister que l'enveloppe cellulosique de la Levûre; la solution centrifugée et décantée a été neutralisée par l'acide acétique; il se produit un précipité très peu abondant, qui se rassemble en flocons blancs. Purifié par dissolution dans la potasse et précipitation par l'acide acétique, ce corps donne les réactions du biuret de Millon. Il est recueilli sur un filtre exempt de cendres, lavé à l'eau acétique pour l'élimination complète de tout phosphate, puis oxydé par l'acide nitrique et le permanganate. Le molybdate d'ammonium donne dans le produit final un trouble jaune très net, constitué par les cristaux microscopiques caractéristiques du phosphomolybdate. La matière précipitée par la neutralisation était donc une protéide phosphorée, très vraisemblablement la nucléoprotéide des noyaux de la Levûre.

» Après filtration, le liquide neutralisé d'où s'était déposée la nucléoprotéide est additionné d'une petite quantité d'acide sulfurique et agité avec de l'éther, dans le but d'extraire les acides organiques éventuels. Mais par l'agitation, toute la couche éthérée se prend aussitôt en un gâteau gélatineux que rien ne peut résoudre, même après trois jours : la masse gélatineuse peut se débiter, au couteau, en petits blocs tremblotants. Cette masse est desséchée, ainsi d'ailleurs que la portion aqueuse, après évaporation de

l'éther, épuisée d'abord par l'alcool bouillant (mis en réserve), puis par l'eau chaude pour enlever les sels.

» Il reste une masse de pellicules blanches, insoluble dans l'eau et les acides, soluble dans les alcalis, qui paraît être la partie essentielle de la gelée primitive, régénérée. Cette substance est de nature azotée, comme il ressort de sa combustion sur une lame de platine; elle se colore en jaune par l'acide nitrique et prend une légère teinte rose par la réaction de Millon, mais ne paraît pas donner la réaction du biuret. Ce doit être un corps assez voisin des albuminoïdes, mais différent; peut-être est-il identique, ou du moins apparenté, à la *colloïdine* décrite autrefois (1) par A. Gautier, Cazeneuve et Daremberg dans un kyste de l'ovaire. Traitée comme plus haut pour la recherche du phosphore, la substance n'a fourni qu'une trace à peine perceptible de phosphomolybdate, provenant peut-être d'une légère souillure par la phosphoprotéide précédemment citée.

» Quant à la question de savoir si le corps gélatineux ne renfermerait pas dans sa molécule, comme les mucines, un sucre ou sucre amidé facilement séparable, la présence du formol dans la préparation compliquait le problème et nécessitait des purifications que le peu de matière dont je disposais ne m'a pas permis de tenter.

» En résumé, l'étude chimique permet de constater dans la matière gélatineuse trois substances :

» 1° cellulose provenant des membranes de la Levûre;

» 2° protéide phosphorée très peu abondante et provenant vraisemblablement des noyaux de la Levûre;

» 3° substance spéciale, abondante, voisine des albuminoïdes et devant être rapprochée de la colloïdine. »

Ce dernier corps est très voisin, sinon identique, à celui qui a été trouvé déjà dans d'autres kystes. Sa présence nous autorise donc à penser que la masse gélatineuse n'est pas une sécrétion spécifique de la Levûre : elle proviendrait, au contraire, d'une réaction de l'organisme parasité. Cette présomption, tirée de l'étude chimique, trouve une remarquable confirmation dans ce fait, que la masse gélatineuse fondamentale et les capsules entou-

(1) *Bulletin de la Soc. chimique de Paris*, XXII, p. 100, 1878.

rant les Blastomycètes ne se produisent jamais dans les divers milieux de culture.

2° Cellules sphériques. — Elles ont une paroi épaisse et claire, marquée par un double contour ; leur protoplasma est clair, à peine granuleux, de teinte légèrement verdâtre, sans noyau apparent. Ces corpuscules sphériques sont souvent réunis par deux dans une même enveloppe, comme s'ils dérivaient l'un de l'autre : c'est qu'en effet ils se multiplient par bourgeonnement et l'on trouve dans la préparation un plus ou moins grand nombre de cellules en voie de gemmation. Le bourgeon peut se détacher de bonne heure et végéter pour son propre compte, ou bien il reste plus ou moins longtemps attaché à la cellule-mère. Ainsi s'expliquent les différences considérables de taille que présentent ces éléments, dont le diamètre varie de 1 μ 5 à 15 et 20 μ. Ils sont réfringents et réfractaires au rouge de ruthénium et au chlorure de zinc iodé ; ils se colorent mal par le bleu de méthylène et l'éosine ; cette résistance aux colorants peut tenir en grande partie à l'action prolongée du formol.

Il est hors de doute que ces éléments sont des Champignons blastomycètes voisins des Levûres. Leurs rapports avec la masse gélatineuse méritent d'être précisés. En effet, chacun d'eux est entouré d'une zone claire ou capsule mucilagineuse, dont la largeur est ordinairement presque égale à celle de l'élément lui même : cette capsule se confond avec la masse gélatineuse fondamentale, mais s'en distingue pourtant par sa teinte plus claire et sa plus grande réfringence ; la distinction est encore plus nette quand on fait usage des réactifs colorants, la capsule prenant une teinte pâle, alors que la masse fondamentale se colore avec plus d'intensité.

Ce n'est pas la première fois qu'on observe chez l'Homme ou les animaux, en divers points du corps, des masses parasitaires ayant la constitution que nous venons d'indiquer. Le professeur Curtis, de Lille, en a fait connaître un remarquable exemple (1) ; le Blastomycète parasitaire avait à peu près la même taille que le nôtre (16 à 20 μ), mais s'était développé sous la peau de la cuisse. Gotti et Brazzola ont vu aussi un Blastomycète encapsulé dans le

(1) F. Curtis, Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine. *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 449-468, pl. IV et V, 1896.

produit de jetage d'un Cheval supposé atteint de morve. Plimmer a trouvé dans le cancer un corpuscule encapsulé qui est également un véritable Blastomycète. Mais aucun de ces organismes parasitaires, eu égard à sa structure, à son siège et aux réactions qu'il provoque, ne peut être sûrement identifié à celui qui nous occupe.

3° FILAMENTS. — Ces filaments sont incolores ou légèrement jaunâtres, assez fragiles ; ils atteignent, quand ils sont intacts, *une longueur de plusieurs millimètres*, alors que leur diamètre, même pour les plus gros, est toujours inférieur à 1 μ. Ils sont d'un calibre rigoureusement uniforme, sans cavité, sans structure, sans bifurcation. Rectilignes quand ils sont courts, ils s'infléchissent en courbes molles et élégantes quand leur longueur est plus considérable. On dirait du verre filé ou des cheveux d'une excessive délicatesse. On pourrait les prendre aussi pour des filaments mycéliens particulièrement grêles ou pour des *Leptothrix* d'une longueur démesurée. Mais ils sont absolument anhistes et ne fixent aucun réactif colorant.

Nous nous sommes demandé si ces filaments ne seraient pas des cristaux. Mais ici encore la réponse est négative. En effet, ils n'offrent aucun phénomène au microscope polarisant, alors même que le champ est sensibilisé par l'interposition d'un quartz de teinte lilas. Ils se dissolvent dans les alcalis, comme la gangue gélatineuse, *mais résistent plus ou moins à l'eau de chaux*, ce qui permet de les observer commodément. Ils sont insolubles dans l'eau et les acides. Ce ne sont pas des acides gras, car, outre l'absence de tout phénomène biréfringent, ils ne sont colorés ni par l'acide osmique, ni par le Soudan III, ni par la teinture d'alcanna, même après avoir été débarrassés, par l'eau de chaux, de leur gangue colloïde.

Nous nous trouvons donc ici en présence d'une production singulière, de nature inexpliquée et qui, croyons-nous, n'a encore jamais été rencontrée dans aucun cas analogue à celui qui fait l'objet de ce mémoire.

Ajoutons que ces filaments énigmatiques sont très inégalement répartis dans la masse gélatineuse : on en trouve partout, semble-t-il, mais en certains endroits ils sont relativement rares, tandis qu'en d'autres ils abondent, au point de former des faisceaux et des volutes qui ne sont pas sans analogie d'aspect avec les

courbes gracieuses que décrit le Bacille du charbon quand on le cultive sur milieu solide.

Les Blastomycètes et les filaments que nous venons de décrire sont les *éléments fondamentaux* de la masse gélatineuse parasitaire. Ils sont noyés dans cette masse même, qui est amorphe. Mais il n'est pas sans intérêt de se demander de quelle manière les deux éléments susdits, cellules et filaments, s'y trouvent répartis.

Pour élucider cette question, nous avons pratiqué des coupes sur la masse déshydratée, durcie à l'alcool et incluse dans la paraffine. Dans ces conditions, elle réduit son volume dans les proportions les plus considérables, mais les parties qui la composent n'en restent pas moins dans leurs rapports initiaux. On constate alors que les filaments sont disposés par couches plus ou moins épaisses, dans l'intervalle desquelles se trouve de la substance amorphe. Les Blastomycètes sont accumulés dans cette dernière par nids ou par colonies. D'autres, il est vrai, sont répartis dans le reste de la masse, mais uniquement à l'état isolé.

4° Globules huileux. — On trouve dans certaines préparations des masses de forme irrégulière, granuleuses et entourant une vacuole ordinairement volumineuse. Au premier aspect, on pourrait penser que l'on a affaire à des organismes protoplasmiques analogues au *Leydenia gemmipara* Schaudinn : la vacuole pourrait être interprétée comme un noyau et les irrégularités de la surface comme des pseudopodes : l'irrégularité même de la forme et la variabilité de la taille ne sont pas en désaccord avec une telle interprétation. Mais il suffit de comprimer ces prétendus organismes pour constater qu'ils sont constitués simplement par un grumeau de substance gélatineuse entourant une goutte huileuse. Nous avons rencontré assez rarement des productions de ce genre ; il nous semble utile néanmoins de signaler leur existence.

Cette substance huileuse est mise en liberté quand la masse gélatineuse est détruite par l'eau de chaux ; on trouve alors, dans le précipité produit par la force centrifuge, des gouttes graisseuses agglutinées en amas parfois considérables.

5° Cristaux. — Mentionnons encore la rencontre assez exceptionnelle de cristaux tabulaires, échancrés à l'un des angles et semblant être constitués par de la cholestérine.

6° Bactéries. — La masse gélatineuse doit être considérée comme une culture pure du Blastomycète décrit plus haut. Néanmoins il nous est arrivé une ou deux fois d'y rencontrer de très courtes Bactéries, rassemblées en petite quantité. Leur nombre est négligeable; elles ne se trouvent évidemment que dans des points isolés de la masse gélatineuse; et il est bien certain qu'elles ne jouent aucun rôle dans la production de celle-ci. Néanmoins, nous les signalons ici, afin de donner l'énumération de tous les éléments figurés que nous avons observés, ne fût-ce qu'à titre tout à fait exceptionnel. Ajoutons que nous n'avons obtenu dans nos cultures ni ces Bactéries ni d'autres microbes, mais uniquement des colonies pures du Blastomycète.

CULTURES

Comme il a été dit plus haut, la substance glaireuse qui s'écoulait par les drains a été recueillie aseptiquement, puis ensemencée en divers milieux : les Blastomycètes ne se sont bien développés que sur les milieux sucrés ; ils ont donné d'emblée des cultures pures.

Sur *plaque de gélose sucrée*, à la température de 22°, la colonie ne se montre qu'au bout de cinq à six jours. Son développement est lent; au bout de deux à trois semaines, elle atteint la dimension d'une lentille; au bout d'un mois, elle peut mesurer jusqu'à deux centimètres de diamètre. C'est alors une colonie opaque, de couleur blanc jaunâtre ou gris clair, à surface granuleuse et chagrinée, à contour irrégulièrement arrondi, à bords surélevés et brusquement arrêtés (fig. 2). Avec le temps, elle prend une teinte de plus en plus brune.

Certaines de ces colonies sont, au contraire, d'aspect vernissé, présentent de fines striations radiées dans la masse plutôt qu'à la surface et peuvent être ombiliquées au centre (fig. 3). Dans ce dernier cas, les bords vont en s'amincissant d'une façon régulière.

Sur *gélose sucrée*, la culture en stries ne commence guère avant 48 heures, à 37°. Elle se présente sous forme d'une strie épaisse, irrégulièrement chagrinée, d'un blanc jaunâtre, sans prolongements marginaux (pl. VI, fig. 3).

Sur *gélose ordinaire*, la culture est plus maigre et se développe plus lentement. A part cela, ses caractères sont les mêmes.

Sur *gélatine* en plaque, la colonie est plus blanche, plus régulière

et d'aspect vernissé. Son contour est arrondi ou régulièrement festonné.

Sur *gélatine*, la culture en stries est plus lente et moins abondante que sur gélose. La strie est de couleur blanc grisâtre, de consis-



Fig. 2. — Culture sur plaque de gélose sucrée, âgée d'un mois environ.

tance muqueuse homogène; ses bords sont souvent festonnés: le milieu se liquéfie très lentement. La culture est alors constituée par des amas globuleux, confluents à la partie supérieure et isolés au fond du tube. Elle s'étale d'abord en forme de clou à la surface du cylindre de gélatine, puis la liquéfaction se fait lentement en entonnoir.

En *bouillon ordinaire*, à 37°, la culture ne commence guère avant trois ou quatre jours. Elle se montre sous forme de grumeaux au fond du vase et le bouillon reste parfaitement limpide.

En *bouillon sucré*, le développement est plus abondant : des gru-



Fig. 3. — Culture sur plaque de gélose sucrée, âgée d'un mois environ ; aspect ombiliqué.

meaux floconneux se déposent au fond du liquide clair. Il n'y a pas le moindre dégagement gazeux, ce qui montre que ce Blastomycète est différent des *Saccharomyces*.

Sur *pomme de terre*, la culture est blanc jaunâtre et forme un enduit d'abord muqueux, qui se développe lentement, mais abon-

damment. Au bout d'un mois, elle atteint plusieurs millimètres d'épaisseur ; elle est alors verruqueuse et de couleur brun clair (pl. VI, fig. 1 et 2). Comme cela se voit pour beaucoup de cultures analogues, la pomme de terre diminue considérablement de volume, bien que les tubes à culture soient préservés de toute évaporation par le capuchonnage.

Sur *pomme de terre glycérinée*, le développement est plus rapide ; la culture forme une couche homogène gélatineuse, d'un blanc jaune clair.

Sur *carotte*, la culture se développe abondamment ; elle est visqueuse.

Sur *sérum coagulé*, la culture est à peu près nulle.

Tels sont les principaux caractères qu'il nous paraît utile de mentionner. Il nous reste à signaler encore une particularité très intéressante, à savoir la formation d'*ascopores*.

Dans les cultures sur gélose sucrée, le parasite se montre tout d'abord sous sa forme ordinaire de cellules sphériques, mesurant de 4 à 10 μ, parfois disposées en chapelet, mais le plus souvent bourgeonnantes. Quand une telle culture date de plus d'une semaine, les formes bourgeonnantes deviennent rares et presque toutes les cellules sont transformées en asques sphériques, limitées par une épaisse membrane d'enveloppe et contenant chacune huit petites spores sphériques, à contour net. Les asques se rompent assez facilement et on peut trouver en plus ou moins grande abondance, libres dans les préparations faites avec une telle culture, les petites spores dont le diamètre est d'environ 3 μ.

Le Blastomycète se conserve indéfiniment avec ses caractères morphologiques habituels, non seulement dans les cultures initiales, mais encore dans les cultures de deuxième, troisième passage, etc. Pourtant, si ses caractères morphologiques restent les mêmes, sa virulence se modifie, ainsi que nous allons le voir.

INOCULATIONS

Le Blastomycète obtenu en culture pure dans les différents milieux est pathogène pour les Mammifères de laboratoire, mais chez aucun il ne nous a donné, quant à présent, de pseudo-tumeur analogue à celle qui siégeait dans le péritoine du malade.

Lapin. — Le Lapin, inoculé dans la veine de l'oreille ou dans le

péritoine avec la totalité ou la moitié seulement d'une culture sur gélose en tube, présente une diarrhée intense et succombe en une semaine environ, considérablement amaigri. A l'autopsie, la rate est très augmentée de volume. Dans les divers organes, principalement dans les reins, se trouvent des pseudo-tubercules de couleur blanchâtre, constitués par des amas de Levûre. Dans ces amas, les Levûres se montrent parfois arrondies (fig. 4), mais le plus souvent elles prennent des formes bourgeonnantes très volumineuses, très irrégulières, en massue, en citron, isolées ou réunies en chapelet de trois ou quatre articles, chaque élément pouvant atteindre 30 μ et plus (fig. 5). Beaucoup de ces éléments sont entourés d'une large capsule hyaline, formation que nous n'avons jamais pu constater dans les cultures et qui résulte, selon toute vraisemblance, d'une réaction de l'organisme parasité.



Fig. 4. — Frottis de rate de Lapin montrant des Levûres arrondies.

On ne trouve pas trace de péritonite chez le Lapin inoculé dans le péritoine : çà et là se voient de petits amas blanchâtres constitués par des formes bourgeonnantes du parasite, mais sans interposition d'une substance gélatineuse en quantité appréciable. La culture intra-péritonéale est donc ici très différente de ce qu'elle était chez le malade. L'identité morphologique du Champignon dans les deux cas nous autorise pourtant à penser que la différence considérable que nous venons de signaler tient, non pas à des variations physiologiques du Champignon lui-même, mais bien plutôt à des différences physiologiques des deux organismes en cause, celui de l'Homme et celui du Lapin ; en d'autres termes, il ne peut s'agir encore que d'un mode particulier de la réaction de l'organisme envers le parasite.



Fig. 5. — Divers frottis de rate de Lapin montrant des Levûres bourgeonnantes.

Rat et Souris. — Le Rat et la Souris sont plus sensibles que le Lapin. Neuf Rats sont inoculés à la dose d'une moitié ou d'un quart de culture sur gélose en tube : tous succombent. Ceux qui ont été inoculés dans le péritoine meurent en six à dix jours, très amaigris et présentant des lésions analogues à celles que nous venons de signaler chez le Lapin.

Les Rats inoculés sous la peau présentent un œdème sous-cutané, lardacé, qui, au bout d'une semaine, fait place à une induration locale. Au bout d'une quinzaine de jours, ces animaux sont devenus cachectiques et sont extrêmement maigres; à partir de ce moment, ils ne tardent pas à succomber. A l'autopsie, la rate est très hypertrophiée, mais contient peu de Levûres.

Chez trois de ces animaux, dont l'autopsie fut faite aussitôt après la mort, les frottis de rate montraient, en outre des Levûres, un certain nombre de microbes ne prenant pas le Gram. La culture a prouvé qu'il s'agissait d'une infection secondaire due au *Bacterium coli*. Le même fait a été observé aussi chez deux Souris inoculées sous la peau.

Cobaye. — Le Cobaye supporte de fortes doses de culture introduites sous la peau. On arrive pourtant à le tuer par inoculation intra-péritonéale.

Oiseaux. — Les Oiseaux sont réfractaires; du moins nous n'avons noté aucun effet nuisible chez une Poule et un Pigeon qui avaient reçu d'assez fortes doses de culture pure dans le muscle grand pectoral.

Marmotte. — Nous avons également inoculé trois Marmottes, le 6 décembre 1902. Chacune d'elles a reçu dans le péritoine (2 cas) ou sous la peau (1 cas) la même dose de culture pure, c'est-à-dire la totalité d'une culture sur gélose inclinée en tube. Il était particulièrement intéressant de rechercher si, comme on pouvait l'admettre à priori, l'organisme d'un animal en hibernation serait réfractaire à l'inoculation d'un Blastomycète pathogène (1). Or, le

(1) Une série de recherches sur la réceptivité des animaux hibernants à l'égard des infections en général et des maladies parasitaires, a montré à l'un de nous (*a*) que la Marmotte en hibernation jouit d'une réceptivité normale ou sensiblement normale, à l'égard du sérum d'Anguille, du venin de Serpent, des Trypanosomes et des toxines diphtérique et tétanique. On va voir qu'il en est de même pour les Blastomycètes pathogènes.

(*a*) R. Blanchard, Expériences et observations sur la Marmotte en hibernation. *C. R. Soc. de biologie*, LV, p. 734-741 et 1120-1126, 1903.

résultat de l'expérience est en contradiction avec cette hypothèse.

La première Marmotte, inoculée dans le péritoine, maintenue au froid et restée en sommeil depuis le jour de l'inoculation, toutefois sans être en état de contracture et de rigidité complète, est morte le 14 janvier 1903, soit au bout de 40 jours. Elle était extrêmement amaigrie.

A l'autopsie, on ne constate aucune trace de péritonite, sauf une légère adhérence de l'épiploon au bord antérieur du foie. A la surface du péritoine se voient quelques rares pseudo-tubercules du volume d'une petite tête d'épingle, constitués par des amas de Levûre. La rate est énorme ; elle est longue de 12 centimètres et pèse 27 grammes ; elle est de teinte rouge violacé avec des pseudo-tubercules jaunâtres mal délimités. Le foie est volumineux, atteint de dégénérescence graisseuse très accentuée et présente les lésions typiques du foie muscade. La substance corticale des reins est décolorée, la substance médullaire est grisâtre. Les deux poumons, de couleur blanc-jaune clair uniforme, sont transformés en deux blocs de consistance ferme, tombant rapidement au fond de l'eau.

Les frottis de ces différents organes mettent en évidence des formes bourgeonnantes de Levûre, pour la plupart entourées d'une épaisse capsule hyaline. Certaines de ces formes sont énormes, mais sont d'ailleurs semblables à celles déjà décrites plus haut. Relativement peu nombreuses dans le foie, dont les éléments histologiques sont extrêmement altérés, les Levûres sont très abondantes dans la rate ; les poumons en renferment encore davantage et en contiennent un nombre vraiment prodigieux.

La deuxième Marmotte, également inoculée dans le péritoine, a été conservée à la température du laboratoire ; elle était assoupie, mais mangeait chaque jour et, par conséquent, n'était aucunement en sommeil hibernal ; sa température se maintenait assez élevée. Elle s'est amaigrie à l'extrême et est morte le 22 janvier 1903. Le foie était stéatosé, comme chez l'animal précédent, mais la rate était beaucoup moins volumineuse et peu modifiée extérieurement ; à l'œil nu, les organes semblaient d'ailleurs être le siège de lésions peu accentuées, bien que tous renfermassent des parasites en très grande quantité.

La troisième Marmotte, inoculée sous la peau et maintenue au froid, s'est endormie rapidement. Elle était encore en sommeil

110 jours après l'inoculation et se montrait extrêmement amaigrie. Elle est morte le 14 avril, au bout de 130 jours, alors que nous étions absents de Paris. Elle était, pour ainsi dire, réduite à l'état de squelette, tant sa maigreur était accentuée ; les viscères étaient pâles, décolorés et dégénérés : des frottis de rate montraient de très nombreux parasites, ayant l'aspect déjà décrit. *Le sang, largement ensemencé sur gélose sucrée, a donné une culture de Levûre caractéristique.*

Lors de notre retour à Paris, le 25 avril, nous avons renouvelé cet ensemencement avec une ampoule de sang qui avait été conservée : une plaque de gélose nous a donné de belles colonies typiques.

Avant de clore le chapitre des inoculations expérimentales, nous devons noter encore que les Blastomycètes conservés en culture sur gélose sucrée perdent petit à petit de leur virulence. Cette atténuation est très considérable, quand on inocule au Lapin des cultures fraîchement rajeunies, ensemencées au moyen de vieilles cultures sur gélose : pour tuer l'animal, il faut lui inoculer des doses beaucoup plus fortes qu'avec la culture jeune de première génération.

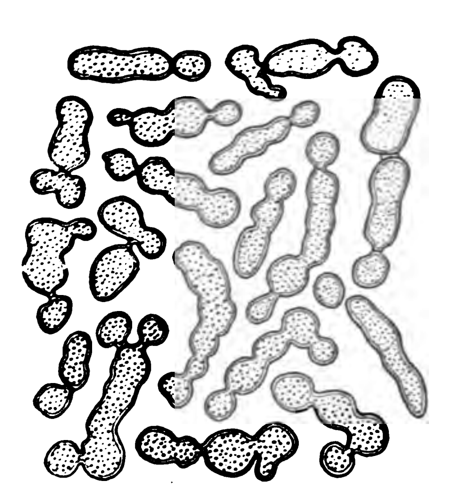


Fig. 6. — Culture de 48 heures sur gélose sucrée, après ensemencement avec de la rate de Lapin.

Ajoutons encore que les Levûres trouvées dans les viscères d'animaux succombant à l'inoculation donnent d'emblée, quand on les ensemence sur gélose sucrée, des cultures pures et luxuriantes du parasite (pl. VI, fig. 4). Avec la pulpe splénique, notamment, on obtient de gros éléments analogues à ceux qui se trouvaient dans les viscères (fig. 6) ; puis, au bout de quelques semaines et après plusieurs bourgeonnements successifs, on ne trouve plus que des formes rondes, qui ne tardent pas à se transformer en asques et à produire des ascospores.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Tel est le résultat de nos inoculations expérimentales. Dans tous les organes où elle pullule si abondamment, la Levûre se trouve toujours à l'état de culture pure, à part le cas d'infection secondaire par *Bacterium coli*, déjà mentionné ci-dessus. L'organisme ne manifeste aucune réaction à l'égard de ce parasite volumineux et envahissant, qui pourtant déplace et comprime les éléments et modifie profondément leurs rapports réciproques : il n'y a ni zone irritative, ni phagocytose, ni cellules géantes.

Cette passivité de l'organisme, sur quelque viscère que se porte l'attention, est vraiment excessive. Elle tient, pensons-nous, à ce que la Levûre produit une toxine soluble, qui met les leucocytes et autres éléments phagocytaires en état de chimiotaxie négative, c'est-à-dire les paralyse. L'existence de la toxine en question, à laquelle nous attribuons ce rôle inhibitoire si manifeste, ne saurait être révoquée en doute, encore que nous n'ayons pu jusqu'à présent l'obtenir en quantité appréciable et en déterminer les caractères : autrement, comment expliquer la profonde dégénérescence graisseuse du foie, dans lequel les parasites sont relativement peu nombreux, et l'amaigrissement des animaux inoculés ? On se rappelle que le malade qui a été le point de départ de nos études était lui-même très amaigri.

EXPLICATION DE LA PLANCHE VI

Fig. 1 et 2. — Culture sur pomme de terre du Blastomycète extrait du péritoine de l'Homme.

Fig 3. — Culture du même sur gélose sucrée.

Fig. 4. — Semis sur gélose sucrée de la rate d'une Marmotte ayant succombé à l'infection expérimentale.

I CYTORYCTES VACCINAE

STUDIO DELLA

Dr Anna FOÀ (1)

(TAVOLE VII E VIII).

PREFAZIONE

Se ho potuto condurre a termine questo studio, lo debbo al mio Maestro Prof. Grassi, a cui esprimo la mia viva gratitudine. Egli ha diretto le mie ricerche, ha proposto le esperienze, ne ha controllati i resultati.

Sono dolente che il mio lavoro, lungi dal conseguire il fine desiderato — dimostrare Protozoi i corpuscoli vaccinici — abbia condotto a conclusioni del tutto opposte. Mi lusingo tuttavia che queste mie osservazioni non saranno inutili, se persuaderanno qualcuno degli insigni scienziati che si sono interessati dell'argomento a tentare qualche nuova via che potrà essere più fortunata.

Sento il dovere di manifestare la mia riconoscenza al benemerito Direttore dell'Istituto vaccinogeno di Roma, Prof. Ottavio Leoni, che nei due anni durante i quali ho compiuto il mio lavoro, mi ha sempre gentilmente concesso tutto il materiale di cui ho avuto bisogno. Il vaccino da lui fornitomi si dimostrò costantemente di qualità ottima, attivo, e privo di germi patogeni.

Ringrazio anche il Prof. Bosc di Montpellier, ed il Prof. Nocard d'Alfort, che cortesemente mi hanno inviato il *virus* della *clavelée*.

CENNI STORICI

STATO DELLA QUESTIONE PRIMA DELLE MIE RICERCHE

Tra gli argomenti che in questi ultimi tempi furono presi in maggior considerazione, va senza dubbio annoverato lo studio del l'infezione vaccinica e vaiolosa. Numerosissimi sono i lavori comparsi su tale soggetto; siccome quasi tutti gli autori riferiscono, e alcuni molto estesamente, la letteratura precedente, ritengo che

(1) Istituto di Anatomia Comparata della R. Università di Roma. — Direttore, Prof. Grassi.

un lungo resoconto storico non sarebbe che una inutile ripetizione. Tuttavia, perchè il lavoro non riesca incompleto, nè manchi della necessaria chiarezza, ricordo le osservazioni che hanno preceduto le mie, ma assai brevemente, fermandomi solo un pò più a lungo sulle pubblicazioni più recenti non ancora discusse, e mettendo specialmente in luce i motivi che indussero i vari autori a formulare le loro conclusioni.

Si può dire che i primi tentativi diretti a riconoscere gli elementi attivi del vaccino datino dal principio del secolo passato, perchè, già nel 1809, Sacco segnalò nella linfa vaccinica la presenza di granuli riuniti in ammassi e dotati di movimenti autonomi (1).

Seguirono una quantità di ricerche poco importanti, finchè nel 1868, Chaveau operando con linfa vaccinica diluita in quantità sempre più grandi di acqua, dimostrò che la linfa vaccinica, privata degli elementi solidi, perde la propria attività (Varlomont).

In seguito altri autori attribuirono l'attività del vaccino a Bacteri e Micrococchi diversi.

Il Van der Loeff, nel 1897, osservò nella linfa vaccinica e nel pus di due vaiolosi, corpuscoli, dotati di movimenti proprii, che egli ritenne molto affini ai Rizopodi.

Quasi contemporaneamente L. Pfeiffer descrisse un nuovo parassita da lui trovato nelle pustole cutanee di diversi Mammiferi e in quelle vaiolose e vacciniche dell'Uomo. Tale parassita, che egli denominò *Monocystis epithelialis*, aveva una forma ovale o rotonda, ad un certo momento si ravvolgeva in una membrana e dava luogo alla formazione di spore. Le figure che accompagnano il lavoro, assai poco dimostrative, piuttosto che illustrare la descrizione, hanno contribuito a toglierle valore.

Nel 1892 parve che la questione avesse fatto un passo decisivo colla interessantissima scoperta di Guarnieri.

Guarnieri studiando le alterazioni vaiolose della cute e delle mucose dell'Uomo, osservò che nelle regioni alterate, le cellule del corpo mucoso di Malpighi, presentano accanto al nucleo dei corpicciuoli che si colorano intensamente. Per determinarne la natura pensò di ricorrere al sussidio dell'analogia studiando l'infezione

(1) J. Delobel et P. Cozette, *Vaccine et vaccination*. Paris. — Manca l'indicazione dell'anno in cui il volume fu pubblicato, ma dalle citazioni riferite nel testo, si deduce essere posteriore al 1897.

vaccinica ed innestò colla linfa vaccinica Pecore e Conigli. Osservando al microscopio le sezioni sottili delle pustole, vi ritrovò nelle cellule epiteliali corpuscoli assai simili a quelli descritti nelle alterazioni vaiolose umane e pensò potesse trattarsi di parassiti.

Riusciti vani parecchi tentativi di coltura, ebbe l'idea geniale di studiare la questione su superficie epiteliali viventi e scelse per questo la cornea del Coniglio. Innestando la linfa vaccinica nel l'epitelio corneale del Coniglio notò infatti che dopo l'iniezione si osservava costantemente nelle cellule epiteliali, la presenza di corpicciuoli caratteristici, ch' egli ritenne esseri viventi, causa del vaccino, e che chiamò *Cytoryctes vaccinae*.

Coll' innesto nell' epitelio corneale di Coniglio, di linfa raccolta da pustole vaiolose osservò la formazione di corpicciuoli simili a quelli ottenuti coll' innesto di vaccino, confermando così l'analogia esistente tra l'infezione vaccinica e quella vaiolosa. Chiamò perciò *Cytoryctes variolae* i corpuscoli vaiolosi, analoghi ai corpuscoli vaccinici.

Le ragioni per cui il Guarnieri ritenne i *Cytoryctes* esseri vivi sono le seguenti :

L' aver osservato nei corpuscoli vaccinici, movimenti ameboidi.

La distribuzione dei *Cytoryctes*, per la quale i corpuscoli di dimensioni piccolissime si trovano nelle cellule più eccentriche dal punto di lesione, mentre quelli di massimo volume si vedono negli elementi dei margini della ulcerazione, dove il processo patologico è più adulto. Questa variazione di dimensione volumetrica sembrò al Guarnieri rappresentasse evidentemente stadi diversi di sviluppo.

La struttura dei corpuscoli, in cui il Guarnieri osservò un nucleo e parecchi vacuetti.

La loro riproduzione per scissione e forse per gemmazione.

La loro proprietà d' escavare gli epiteli corneali.

Il Guarnieri, con queste interessantissime osservazioni, ebbe il doppio merito di porre la questione in un campo ben determinato, richiamando l' attenzione su quei dati corpicciuoli, e di trovare un materiale di studio assai opportuno e facile a procurarsi, innestando il vaccino o il vaiolo nell' epitelio corneale di Coniglio. Le sue esperienze furono tosto riprese da moltissimi osservatori, ma, mentre tutti confermarono in generale l' esattezza dei fatti da lui osservati, non tutti furono concordi nell' interpretazione. Oggi

ancora, dopo dieci anni, continuano i contrasti a tal punto, che non solo non sono stabilite le proprietà dei *Cytoryctes*, ma chiunque ne intraprenda lo studio deve cominciare col domandarsi se essi sono o no esseri viventi.

Si può dire che i lavori sul vaccino e sul vaiolo compiuti dopo il 1892 sono altrettanti tentativi diretti a rispondere a tale quesito. La contradizione delle risposte dimostra quanto sia difficile trovare un argomento decisivo per risolvere la questione.

Le prime obiezioni a Guarnieri furono mosse nel 1893 da Ferroni e Massari, i quali ritennero i corpuscoli vaccinici alterazioni patologiche e non parassiti, e ciò sopratutto perchè producendo artificialmente infiammazioni della cornea di Coniglio con olio di croton, vapori d'acido osmico, inchiostro di China, essi ottennero corpuscoli che giudicarono identici ai *Cytoryctes*. Credettero che i corpuscoli vaccinici derivassero in massima parte dai nuclei delle cellule epiteliali, e forse, solo in pochi casi, potesse trattarsi di leucociti.

Il Monti riprese *ab ovo* lo studio dell'argomento, ed i resultati delle sue ricerche, che egli comunicò dapprima alla Società Medico-Chirurgica di Pavia nel 1893, ed espose poi estesamente nell 'XI Congresso medico in Roma nel 1894, lo indussero a ritenere esatta l'ipotesi di Guarnieri, sulla natura parassitaria dei *Cytoryctes*.

Le principali ragioni da lui portate a sostegno della sua opinione sono le seguenti :

L'aver ottenuto nello studio batteriologico di pustole vaiolose di cute e di organi diversi di individui morti di vaiolo emorragico, e di pezzetti di cute asportati dal vivo nel periodo prepustolare, o resultati negativi o lo *Staphylococcus pyogenes aureus* e altri noti microfiti dell'epidermide umana normale.

L'aver costantemente riscontrato sulla cute di morti di porpora vaiolosa, nelle cellule del reticolo malpighiano in corrispondenza delle macchie emorragiche, i corpuscoli di Guarnieri, molto caratteristici, ben colorabili col metodo di Biondi, coll'ematossilina e con una particolare miscela di ematossilina e safranina.

L'aver costantemente riscontrato nelle cellule dell'epitelio corneale di Coniglio inoculato con virus vaioloso, i particolari corpuscoli veduti nel reticolo malpighiano nei casi di porpora vaiolosa e mancanti in altre malattie cutanee.

I caratteri morfologici dei corpuscoli stessi.

I loro movimenti ameboidi.

Il non aver riscontrato corpuscoli eguali ai corpuscoli del vaiolo nell'epitelio corneale di Coniglio irritato con olio di croton, acido osmico, inchiostro di china, od inoculato con frammenti di cute tolti da ammalati di morbillo, scarlattina, ecc.

Nello stesso Congresso del 1894, Guarnieri comunicò altre osservazioni dirette a convalidare la sua ipotesi. Queste nuove ricerche riguardano sopratutto i movimenti ameboidi che osservò in corpuscoli delle pustole vacciniche e vaiolose, la struttura dei corpuscoli vaccinici, nei quali credette di poter dimostrare la presenza di un nucleo e di un protoplasma, la loro moltiplicazione, che ritenne per scissione.

Il Babes, nella discussione intorno alle pubblicazioni di Monti e di Guarnieri, osservò che probabilmente i corpuscoli vaccinici potevano essere i nucleoli delle cellule epiteliali.

Ruffer rispose che, dopo aver studiato la questione del vaccino, era giunto alle stesse conclusioni di Guarnieri.

Nello stesso anno 1894, uscirono altre pubblicazioni, favorevoli all'ipotesi di Guarnieri. Ricordo quella di L. Pfeiffer, il quale con mezzi chimici, non riuscì ad ottenere alterazioni simili ai *Cytoryctes*, quelle di Ruffer e Plimmer, di Clarke, i quali tutti si occuparono principalmente della struttura dei corpuscoli vaccinici.

Nel 1895 si hanno ancora altre pubblicazioni favorevoli all'ipotesi di Guarnieri. Una è di Sicherer, il quale, colle iniezioni di linfa vaccinica fresca di bambini ottenne le solite inclusioni nell'epitelio corneale di Coniglio, l'altra è di E. Pfeiffer il quale porta a favore dell'ipotesi di Guarnieri l'argomento che la linfa vaccinica, passata attraverso il filtro, non produce nelle cellule i corpuscoli vaccinici.

Nel 1897 Guarnieri pubblicò nuove ricerche dirette ad avvalorare la sua ipotesi.

Egli fece nuove osservazioni intorno ai movimenti ameboidi, e li riscontrò di nuovo esaminando il *detritus* di pustole vacciniche, si occupò in seguito di seguire la sorte dei *Cytoryctes* attraverso il ciclo evolutivo dell'alterazione vaccinica, e gli parve di aver motivi sufficienti per mettere in rapporto lo svolgersi del processo patologico colla riproduzione dei *Cytoryctes*.

Non riuscì, come gli altri autori sopra citati, a riprodurre colle più svariate eccitazioni, corpuscoli simili a quelli che si hanno coll'innesto del vaccino.

Ripetendo le esperienze sulla filtrazione del vaccino, non ottenne mai l'infezione nei Conigli inoculando il liquido passato attraverso la carta da filtro, mentre l'ottenne costantemente coll'inoculazione del *detritus* trattenuto dal filtro.

Infine, inoculando frammenti di lamelle epiteliali corneali di Coniglio previamente innestato con vaccino, riuscì a riprodurre le vere pustole vacciniche nelle Agnelle e in un Vitello. Col contenuto di queste pustole riprodusse nelle cornee dei Conigli la caratteristica infezione.

Ottenne risultati assolutamente negativi in tutte le prove di coltura *in vitro* con i prodotti delle diverse manifestazioni patologiche dell'infezione vaccinica, ed a ragione ne dedusse che questi resultati costituivano un argomento di più per dimostrare l'importanza del metodo degli innesti corneali, da lui immaginato.

Nello stesso anno il von Wasielewski pubblicò un lavoro sull'argomento usando una tecnica speciale ed occupandosi principalmente della struttura dei corpuscoli vaccinici. Egli li ritenne esseri parassiti delle cellule e credette di aver trovato un criterio per distinguere alcune forme di degenerazione, da altre che potevano interpretarsi come forme di divisione.

Un lavoro del Solovtzov, dello stesso anno, è anche favorevole all'ipotesi parassitaria.

Si potrebbe dire che a questo punto cessi il periodo favorevole all'ipotesi parassitaria, ed incominci un periodo contrario. Infatti, non ostante tutte queste conferme all'interpretazione di Guarnieri, nel 1897 comparve un lavoro del Salmon nel quale l'autore, pur riconoscendo esatte le osservazioni di Guarnieri, interpretò diversamente i resultati.

Il Salmon, dopo aver sperimentato con parecchie sorta di colorazioni, credette di poter stabilire che i corpuscoli vaccinici ed i nuclei dei leucociti si colorivano nella stessa maniera, e differentemente dai nuclei delle cellule epiteliali, per questo ritenne i corpuscoli vaccinici non parassiti, ma prodotti di degenerazione dei leucociti. Però disse che nell'epitelio i leucociti trasformati

erano assolutamente irriconoscibili e che non aveva alcun dato relativo al modo della trasformazione.

Nel 1898 London sostenne l'ipotesi di Salmon, della derivazione dei corpuscoli dai leucociti.

Nello stesso anno comparve un lavoro dell'Hückel, esteso, accuratissimo, ricco di incisioni rappresentanti con scrupolosa esattezza le infinite forme di inclusioni cellulari osservate dall'autore nell'epitelio corneale di Coniglio innestato con vaccino, o irritato in vari modi. L'autore si basa sopratutto sui preparati di epitelio corneale di Coniglio fissato con soluzione acquosa satura di sublimato con 0,50 °/o di cloruro di sodio, coloriti colla miscela di Biondi, e trova che con questo mezzo si riesce a distinguere i corpuscoli vaccinici dalle inclusioni cellulari che si possono ottenere irritando l' epitelio corneale di Coniglio con altri mezzi. Mentre, come si è visto, la maggior parte degli autori aveva negato che si potessero produrre artificialmente corpuscoli paragonabili ai *Cytoryctes*, l' Hückel dimostrò che con l'acido osmico si ottengono nelle cellule epiteliali dei corpuscoli che, colla miscela di Biondi si colorano in rosso. Egli ha ottenuto le stesse formazioni eritrofile anche in una cornea irrítata solo simpaticamente, cioè lasciata intatta mentre nell' altra era stato praticato il raschiamento dell' epitelio. Corpuscoli eritrofili eguali a questi, si trovano anche nella cornea di Coniglio innestata con vaccino, ma non sono compresi dall' Hückel tra i corpuscoli vaccinici. I corpuscoli caratteristici del vaccino, che non possono ottenersi in altro modo, differiscono dalle altre formazioni perchè colla miscela di Biondi si colorano in azzurro od hanno una parte che si colora in azzurro. Questo è il solo carattere differenziale dei corpuscoli vaccinici.

L'autore passa in seguito a discutere le opinioni manifestate dai vari osservatori, ed appoggiandosi alle proprie ricerche, condotte in modo rigoroso, viene a concludere che non puo associarsi nè ai fautori dell' ipotesi parassitaria, nè ammettere alcuna delle spiegazioni proposte dagli oppositori.

L' ipotesi di Salmon e London (1), che i corpuscoli vaccinici rappresentino alterazioni dei leucociti, era già stata contrastata da L. Pfeiffer, (il quale ritenne che i leucociti mancassero nel centro

(1) London non è citato da Hückel.

dell' infezione nelle prime 48 ore), da Monti, da E. Pfeiffer e da von Wasielewski, (il quale dimostrò che l' eguale reazione colorante dei corpuscoli vaccinici e dei nuclei dei leucociti, che fornì a Salmon il principale argomento per stabilire la sua ipotesi, sparisce con altri mezzi di colorazione). Hückel osservò che i leucociti, contrariamente alle osservazioni di altri autori, si trovano nel taglio praticato per l' inoculazione già un'ora e mezza dopo l'inoculazione stessa, ma che, tanto colla colorazione colla miscela di Biondi, quanto colla fucsina e il verde iodo i corpuscoli vaccinici si colorano diversamente dai leucociti; a volte, sebbene di rado, gli riuscì di osservare in una stessa cellula epiteliale un leucocito ed un corpuscolo vaccinico. Inoltre, ha cercato di stabilire il valore dell' ipotesi dei leucociti con prove sperimentali ed ha fatto sgocciolare nell' occhio di Coniglio innestato con vaccino, inchiostro di china disciolto. Nell' esame di tali cornee i corpuscoli del vaccino non presentavano punti neri, mentre le inclusioni cellulari che contenevano tali punti, potevano riconoscersi per leucociti anche per altri caratteri.

Circa all' ipotesi di Babes che i corpuscoli vaccinici derivino dai nucleoli, dice che il Babes deve aver osservato solo i corpuscoli vaccinici più piccoli e rotondi, perchè la struttura dei corpuscoli più grandi e non sferici, fornisce un criterio per differenziarli dai nucleoli. Descrive il modo di presentarsi dei nucleoli nelle cellule epiteliali, e dice che non ha mai sorpreso un nucleolo nel momento dell' uscita dalla cellula; la mancanza dei nucleoli, che a volte si verifica, non costituisce una prova, perchè spesso esistono i nucleoli nel nucleo e parecchi corpuscoli vaccinici fuori del nucleo; inoltre nell' epitelio corneale colorito con fucsina e verde iodo i nucleoli non si colorano mai in rosso come i corpuscoli vaccinici.

Quanto alla probabile derivazione dei corpuscoli vaccinici dai nuclei, fa osservare che solo alcune forme più piccole sono in stretto rapporto coi nuclei, e che, se colla colorazione di Biondi i corpuscoli vaccinici assumono il colore dei nuclei, questo però non avviene con altri mezzi di colorazione, ecc.

Accenna poi all'ipotesi, da alcuni avanzata, che i corpuscoli vaccinici derivino dai centrosomi, ma conclude che una quantità di ragioni (grandezza, forma, struttura, colorabilità, coesistenza dei centrosomi e dei corpuscoli vaccinici, ecc.) debbono farla respingere.

Discute poi minutamente l'ipotesi di Guarnieri. Siccome di questa parte dovrò trattare più avanti, per ora mi limito a dire che in generale l'Hückel, pure riconoscendo l'esattezza delle osservazioni di Guarnieri, non ne approva l'interpretazione.

Nell'ultima parte del suo lavoro l'autore esprime appunto la sua personale opinione sulla natura dei corpuscoli vaccinici. Dimostra che tutti i corpuscoli vaccinici hanno lo stesso valore e ritiene che derivino dal protoplasma delle cellule epiteliali. La presenza di corpuscoli eritrofili non specifici pel vaccino lo induce a formulare l'ipotesi che l'azione del vaccino sulle cellule dell'epitelio corneale risulti dall'unione di due componenti, uno con potere dissociante, l'altro capace di produrre alterazioni chimiche. Il componente dissociante, non caratteristico del vaccino, produrrebbe le forme eritrofile, l'altro, agente chimicamente, specifico per il vaccino produrrebbe le forme cianofile, non ottenute con altri mezzi.

L'Hückel non dà altro valore ai corpuscoli eritrofili se non quello di sostenere la sua asserzione che « sotto alcune influenze certe parti del protoplasma mutano la loro costituzione, si differenziano da quelle vicine e possono separarsene in diverso grado ». I corpuscoli vaccinici analoghi per forma e per altri caratteri ai corpuscoli rossi, ne differirebbero chimicamente e questa diversità di costituzione chimica si manifesterebbe con la mutata affinità per certi colori. Quanto all'agente del contagio, suppone che possa essere tanto piccolo da non poter essere osservato coi mezzi che ci dà la nostra tecnica. Con lo sviluppo di questo contagio, si libererebbe una sostanza velenosa capace di produrre una speciale alterazione in certe parti del protoplasma della cellula epiteliale.

Per quanto questo lavoro dell'Hückel sia uno dei più completi comparsi sull'argomento, e le sue osservazioni siano state riscontrate esattissime, le sue ipotesi non furono accettate, anzi si può dire che dal 1898 cominci un altro periodo favorevole all'ipotesi parassitaria dei corpuscoli vaccinici.

Nello stesso anno 1898 il Bossalino pubblicò i resultati di una serie di ricerche da lui eseguite, in seguito alle quali concluse che i *Cytoryctes* devono ritenersi parassiti soprattutto perchè li ottenne costantemente inoculando il pus vaccinico nell'epitelio anteriore della cornea di Coniglio, mentre non li ottenne con nessun altro mezzo, e perchè quando alla linfa mancano le qualità vaccinali nei

Bambini, inoculata nella cornea di Coniglio, non dà la presenza di *Cytoryctes*.

Ancora nel 1898 Musso, scolaro di Bosc, dopo aver preso in esame la questione venne a concludere che i *Cytoryctes* sono parassiti. Le ragioni da lui addotte non differiscono da quelle portate dagli autori precedenti; sono cioè la distribuzione dei *Cytoryctes* nel luogo dell'infezione in modo che le forme più grandi si trovano nelle vicinanze del luogo di inoculazione e le più piccole alla periferia, la loro struttura, le forme di divisione, ecc.

Nel 1899 il Gorini si occupò di stabilire se le inoculazioni corneali potessero servire come controllo del vaccino e per questo cercò di stabilire se il reperto microscopico del vaccino fosse realmente caratteristico. Dopo aver sperimentato colla sola glicerina, coi principali Bacteri che più frequentemente e più a lungo sono contenuti nel vaccino, col vaccino inattivo (sia con quello divenuto inattivo spontaneamente, sia con quello reso tale mediante riscaldamento a 60°, o filtrato attraverso la candela F di Chamberland), non osservò mai un'alterazione microscopica dell'epitelio corneale che potesse simulare quella ottenuta coi vaccini attivi. In alcune sezioni ottenne qualche corpuscolo endocellulare non distinguibile da alcune forme meno tipiche dei *Cytoryctes*, ma così raro e solitario da non lasciar campo ad errori o ad equivoci. Ciò concorda con quanto ha osservato l'Hückel. Di altre deduzioni d'interesse pratico, ricavate dal Gorini, non è qui il caso di parlare.

Il Gorini ha pubblicato in seguito, nel 1900 e nel principio del 1901, altre osservazioni sui *Cytoryctes* e si è occupato di stabilire i caratteri dei *Cytoryctes* stessi; fa notare che alcune forme sono in stretto rapporto coi nuclei, cerca di stabilire confronti tra l'infezione micetozoica della cornea e l'infezione vaccinica. Conclude che si possono fare due ipotesi: o ritenerli il prodotto di una alterazione nucleare, o supporli parassiti i quali invadono non solo il protoplasma, ma anche il nucleo delle cellule. Non si pronunzia però in favore nè dell'una nè dell'altra.

Nel 1900 Roger e Weil comunicano di aver trovato il parassita del vaiolo e di averlo coltivato nel sangue di Coniglio reso incoagulabile coll'estratto di testa di Sanguisuga. Questa prima nota è seguita da un'altra pubblicata nel 1901, dove gli autori cercano di precisare le asserzioni precedenti.

Ancora nel 1900 il Siegel descrive nelle pustole vacciniche di Vitella di 96 ore e nelle giovani vesciche di afta epizootica tre sorta di forme di parassiti; una grande forma di cisti, una media ed una piccola. Egli mise le tre forme in relazione di dipendenza genetica, senza però poter dimostrare il passaggio tra la più grande e la media. Descrisse poi altre forme che interpretò come sporozoiti. Le figure che accompagnano il lavoro, sono, a dir il vero, assai poco chiare e per nulla dimostrative.

Nel 1901 von Wasielewski pubblica un secondo lavoro, molto minuzioso ed accurato, anche per quello che riguarda la discussione intorno alle ragioni portate dai diversi autori a sostegno o contro l'ipotesi parassitaria. L'autore non ritiene fondate le varie obiezioni mosse all'ipotesi di Guarnieri. Alle conclusioni di Ferroni e Massari, di Salmon e London, di Babes, egli oppone ragioni che sono in gran parte quelle già state opposte dall'Hückel, a cui quasi sempre l'autore si associa. Quanto poi all'ipotesi di Hückel, che i corpuscoli vaccinici siano alterazioni del protoplasma caratteristiche e specifiche per il vaccino, egli dice che l'Hückel formula delle ipotesi, ma non ne dà la dimostrazione. Trova che non vi è ragione di ammettere che il contagio del vaccino sia tanto piccolo da sfuggire ai nostri mezzi di indagine dal momento che il parassita del vaccino non passa attraverso il filtro Chamberland. Ritiene che non vi siano ragioni sufficienti per ammettere un'azione speciale del contagio vaccinico, trova che l'Hückel non ha affatto spiegato l'origine dei corpuscoli cianofili propri del vaccino ed osserva che un processo chimico come quello supposto dall'Hückel, capace di far acquistare ad alcune parti del protoplasma la capacità di colorarsi nel modo del nucleo, non è mai stato osservato.

Esamina poi i motivi portati a sostegno dell'ipotesi parassitaria e trova che l'esclusiva presenza dei corpuscoli vaccinici nel vaiolo e nel vaccino, il loro presentarsi regolarmente nell' epitelio innestato con linfa vaccinica o vaiolosa, la loro mancanza nelle inoculazioni fatte con altre sostanze o con linfa inattiva, le loro proprietà, la loro azione sulle cellule epiteliali, sono altrettante ragioni che parlano in favore dell' ipotesi di Guarnieri.

Venendo poi alle ricerche personali si occupa anzitutto di stabilire con osservazioni di controllo quali alterazioni si ottengano nella cornea di Coniglio con inoculazione di linfa sterile e descrive

queste alterazioni minutamente. Cerca poi un criterio per distinguere i *Cytoryctes* delle altre inclusioni cellulari, e finisce coll'associarsi all' Hückel nel riconoscere che il modo più sicuro per distinguere i corpuscoli vaccinici è quello di colorirli colla miscela di Biondi. Infine, come controllo, esperimenta le inoculazioni nella cornea di Coniglio del contenuto delle pustole di afta epizootica e le inoculazioni con *Monilia candida*; tutte queste esperienze lo inducono a ritenere che i corpuscoli vaccinici siano specifici del vaccino.

Poi si occupa della cultura dei corpuscoli vaccinici nell' epitelio corneale di Coniglio e si propone di stabilire due punti:

I. Per quanto tempo si può ottenere la formazione dei corpuscoli vaccinici nell' epitelio corneale dei Conigli sani, mediante inoculazione di epitelio corneale infetto.

II. Se nelle cellule specificamente alterate rimane, contemporaneamente all' alterazione tipica, la proprietà caratteristica della linfa vaccinica di produrre nella pelle dei Vitelli e dei Ragazzi le pustole tipiche.

Mediante parecchie serie di esperienze rigorosamente condotte egli riesce a stabilire che la produzione dei corpuscoli vaccinici con successivi innesti di epitelio corneale da un Coniglio all' altro si può prolungare fin che si vuole, e, che, coll' inoculazione del l'epitelio corneale così infettato, si possono riprodurre nei Vitelli e nei Bambini le pustole caratteristiche.

Studia poi le proprietà dei corpuscoli vaccinici (forma, struttura, figure di divisione, ecc.), e infine dimostra che la linfa vaccinica priva di Batteri è ancora attiva. Quindi, tanto per le considerazioni fatte intorno ai lavori degli altri, quanto per le osservazioni proprie, conclude che l'ipotesi di Guarnieri, che i corpuscoli vaccinici siano gli agenti del vaccino, deve esser ritenuta come *molto verosimile.*

Come si vede manca ancora la prova decisiva.

Dopo questo lavoro, compaiono molte altre pubblicazioni, in massima, favorevoli all' ipotesi di Guarnieri, ma le proprietà che i varî autori riconoscono nei *Cytoryctes* sono così diverse, che non si può dire che la questione, per queste ricerche, sia molto avanzata.

Il Guarnieri stesso nel 1901 comunicò altre sue ricerche al Con-

gresso di Patologia Interna di Pisa (che non ho potuto conoscere).

Il Bosc, anche nel 1901, pubblicò uno studio comparativo tra il vaiolo degli Ovini (*clavelée*) il vaiolo, il vaccino ed il cancro. I resultati di tutte queste ricerche lo indussero a ritenere tutte le malattie sopra nominate « strettamente unite tra loro per somiglianze sintomatiche, istologiche ed istogeniche, come per l'esistenza in ciascuna di esse, di formazioni intracellulari, alle quali una serie di argomenti tende ad accordare una natura parassitaria. » Nello studio di questi elementi trovò delle figure che interpretò come figure di riproduzione di cui non si può trovare l'equivalente che nella classe degli Sporozoi. Però, per quel che riguarda il vaccino ed il vaiolo non descrisse forme essenzialmente diverse da quelle descritte dagli altri autori, nè portò argomenti nuovi a sostegno della sua opinione. Nella *clavelée* invece descrisse forme che ritenne assai simili ad alcune che si trovano nei Coccidi. Sulla *clavelée* tornerò più avanti.

Nel 1902 uno scienziato giapponese, Ishigami, descrisse un completo e complicato ciclo di sviluppo del parassita del vaiolo e del vaccino, e indicò un mezzo di coltura, col quale ottenne resultati positivi fino alla quarta generazione. Quel che colpisce nel leggere il lavoro di Ishigami (riassunto nel *Centralblatt für Bakteriologie*) è il constatare come l'autore descriva forme diverse da quelle che videro gli altri numerosissimi studiosi che si occuparono dell'argomento, i quali tutti, pur discordando nelle interpretazioni, descrissero presso a poco le medesime forme. Ishigami, studiando la cute di Vitelli, trova ad esempio che ogni corpuscolo nel protoplasma delle cellule si divide in 2-4-10 parti ed anche più, oppure giunto ad un certo grado di sviluppo (circa al 5° giorno) si circonda di una membrana ed il contenuto si divide e diventa granulare; fatti questi non osservati dagli altri autori.

E' notevole una pubblicazione di Sanfelice e Malato, anche questa del 1902 (1). Gli autori cominciano le loro ricerche col materiale raccolto nelle autopsie eseguite su individui morti di vaiolo nel l'epidemia di Cagliari del 1898. Eseguendo ricerche batteriologiche col contenuto delle pustole vaiolose, o con pezzi di organi di individui morti di vaiolo trovarono parecchi Batteri e costantemente lo

(1) La nota preliminare era già uscita nel 1899 sul *Centralbl. für Bakt.* XXV, n° 18-19.

Stafilococco piogene aureo. Col materiale vaioloso raccolto nella prima autopsia vennero praticate iniezioni in Conigli, Cani e Pecore, iniezioni che produssero pustole cutanee, e, nella maggior parte dei casi la morte degli animali in cui vennero praticate. Dalle culture delle pustole e degli organi di questi animali fu sempre isolata una forma uguale allo Stafilococco piogene aureo, per cui gli autori pensarono che si trattasse di un Batterio, simile morfologicamente allo Stafilococco piogene aureo, ma diverso per la proprietà di produrre l'infezione vaiolosa, caso non nuovo nella batteriologia.

Colle culture pure di questo Stafilococco, tratto dagli organi dei morti di vaiolo, praticarono iniezioni endovenose nei Cani. I Cani così inoculati morirono presentando le stesse alterazioni anatomopatologiche degli individui morti di vaiolo e dei Cani iniettati col materiale tratto dagli organi degli individui stessi. Gli altri Microorganismi isolati dalle pustole vaiolose non produssero gli stessi effetti, come pure non li produsse lo Stafilococco piogene aureo comune isolato dai diversi ascessi, flemmoni, ecc.

Le inclusioni cellulari descritte da Guarnieri e dagli altri autori sono riscontrate anche da Sanfelice e Malato tanto negli individui morti di vaiolo, come nei Cani morti in seguito alle iniezioni endovenose di materiale vaioloso, o di quel Batterio simile allo Stafilococco piogene aureo, isolato in culture pure, dal materiale tolto dagli individui morti di vaiolo. È importante notare che forme simili a quelle osservate nella cornea di Cane innestata colle culture di Stafilococco tratto dai vaiolosi, furono anche riscontrate, sebbene in numero assai scarso, nella cornea di un Cane innestato collo Stafilococco piogene aureo comune. Gli autori spiegano la grande varietà di forme presentate dai corpuscoli di Guarnieri, ammettendo che la permanenza nelle cellule epiteliali dia luogo a forme di involuzione, forme che sarebbero rappresentate dalle figure più grandi e da quelle di media grandezza.

In seguito agli esperimenti sul vaiolo ne furono intrapresi altri sul vaccino, ma con resultati ben diversi.

Anzitutto dimostrarono che la linfa vaccinica produce nei Cani un' infezione locale e non generale; ricercarono quindi i Micrococchi più comuni nella linfa vaccinica e trovarono più frequenti lo Stafilococco piogene aureo ed albo. Colle culture pure di questi

Micrococchi isolati dal vaccino non ottennero nei Conigli, nelle Pecore e nei Cani, le alterazioni che si ottengono coll'innesto della linfa vaccinica e neanche una immunizzazione contro l'innesto del vaccino. Ne dedussero che il parassita del vaccino non si può coltivare artificialmente e che il parassita del vaiolo, sebbene morfologicamente corrisponda a quello del vaccino, pure è una varietà che si differenzia da questa perchè, oltre che dotata di un potere patogeno diverso, non è coltivabile.

Oltre a Sanfelice e Malato, anche il Gorini in una pubblicazione in data marzo 1901, descrive dei Batteri che mette in rapporto col vaccino. Questi Batteri che si presentano come aggregati di 2, 3, o 4 granuli in forma di Cocchi, che ricordano il *Micrococcus tetragenus*, sono stati riscontrati dal Gorini nell'epitelio corneale di Coniglio innestato con vaccino, prima della comparsa dei *Cytoryctes*. Essi diventano meno frequenti man mano che i *Cytoryctes* si sviluppano, e poi finiscono per scomparire. L'autore ritiene che questi granuli, come i *Cytoryctes*, siano un prodotto del vaccino attivo e non germi estranei perchè li trova nella linfa che si dimostra sterile colle culture, mentre produce nell'epitelio corneale la solita reazione con lo sviluppo di *Cytoryctes*. Non li ha trovati in un vaccino inattivo.

Mentre questi ultimi lavori tenderebbero a ricondurre tra i Batteri i parassiti del vaiolo e del vaccino, nell'agosto 1902 compare un'altra pubblicazione di Guarnieri, nella quale l'autore studia minutamente la struttura e lo sviluppo dei *Cytoryctes*. Egli ritiene di poter distinguere in alcuni *Cytoryctes* un citoplasma granulare e un nucleo vescicolare provvisto di un cariosoma. Riguardo alla moltiplicazione dei *Cytoryctes*, oltre al processo di divisione, l'autore descrive minutamente forme caratteristiche che interpreta come stadi di moltiplicazione per sporulazione; queste forme — è bene notarlo — non somigliano affatto a quelle descritte dall'Ishigami. Il Guarnieri non solo non riscontra nessuna cisti, ma nota espressamente che le forme in cui si compiono i processi di moltiplicazione non sono mai provviste di membrana propria. Infine fa notare la somiglianza tra le forme da lui descritte e quelle che si osservano nei *mononti* di alcuni Sporozoi, e conclude che mentre non vi è alcun dubbio che i corpuscoli da lui designati col nome di *Cytoryctes vaccinae* sieno degli esseri parassitari viventi, è altresì

molto verosimile che essi siano da classificarsi tra gli Sporozoi (1).

Dopo di ciò, nel 1° numero del nuovo giornale *Bulletin de l'Institut Pasteur* (28 febbraio 1903) si legge il riassunto di una pubblicazione di Sikorsky, l'autore dice che i corpuscoli vaccinici non presentano niente di specifico per il vaccino; che alterazioni microscopiche simili a quelle prodotte dal l'inoculazione della sostanza vaccinica nella cornea di Coniglio si possono avere coll' inoculazione di parecchie altre sostanze e specialmente della tossina difterica, e che coll' inoculazione di tossina difterica i corpuscoli di Guarnieri appariscono in tutta la loro nettezza.



Colla speranza che il criterio dell'analogia, potesse portare qualche luce sulla questione, ho cercato di studiare anche la *clavelée* (vaiolo degli Ovini), malattia intorno alla quale fu richiamata la nostra attenzione sopratutto dalle publicazioni di Bosc. Il Bosc in una comunicazione al XII Congresso internazionale di Mosca, tenuto nell'agosto 1897, considerando il cancro e le malattie che denomina *à Sporozoaires* (*clavelée*, vaiolo, vaccino, sifilide, tracoma, ecc.) a proposito della *clavelée*, dice che, grazie alla rapidità del processo si può seguire molto da vicino l'evoluzione dello Sporozoo, seguire il suo passaggio dalla massa non nucleata a forma di fermento, fino al Coccidio voluminoso che dissocia la cellula, e alla cisti coccidica sporulata.

Disgraziatamente neanche nella *clavelée* le cose non si sono dimostrate così semplici come sembrava dovessero essere. Accenno brevemente alle principali pubblicazioni sull'argomento.

Nel 1901 il Bosc descrive i parassiti della *clavelée* come elementi caratteristici, dello stesso ordine di quelli del vaccino e del vaiolo umano, e dice di averli trovati nelle lesioni della *clavelée* (nella pelle, nella cornea, nei polmoni, ecc.), nella linfa fresca di *clavelée* e nel sangue.

(1) Avendo comunicato al Convegno dell'Unione Zoologica Italiana, tenutosi in Roma dal 31 ottobre al 3 novembre 1902 i resultati delle mie ricerche, che mi condussero ad escludere che i *Cytoryctes vaccinae* potessero ritenersi Protozoi, il Monti osservò che pur riconoscendo l'importanza dei fatti nuovi da me rilevati, non poteva considerare la questione completamente risolta e ciò perchè quando ebbe occasione di studiare il vaiolo umano, rinvenne forme con evidente nucleo e forme a rosetta assai regolari, ecc.

Alle obiezioni del Monti sarà risposto nel testo.

Pochi giorni dopo il Nocard oppone che non contesta l'esistenza degli elementi descritti dal Bosc, ma non accetta il significato dal Bosc a loro attribuito. Dice che se il Bosc osserva nel sangue gli stessi elementi che trova nella linfa di *clavelée*, nelle pustole, nelle lesioni polmonari della malattia, è assolutamente certo che questi elementi non sono i parassiti della *clavelée*, e ciò perchè il sangue degli animali infetti, non è virulento in alcun periodo della malattia, in qualunque modo si pratichi l'iniezione.

In un'altra pubblicazione uscita nel 1901 già citata a proposito del vaccino, il Bosc, a proposito della *clavelée* descrive forme grandi con un evidente nucleo, forme a doppio contorno assai netto con nucleo e nucleolo, forme cistiche racchiudenti quattro spore nucleate, ecc.

Più tardi il Bosc, rispondendo al Nocard, ha riferito vari esperimenti in cui ha ottenuto resultati positivi, inoculando agli Agnelli il sangue di Pecore con *clavelée*.

Tuttavia neanche la natura del parassita della *clavelée* può dirsi accertata. Infatti nel febbraio 1902 il Borrel prova che il parassita della *clavelée* deve esser compreso tra i microbi piccoli perchè in certe condizioni passa attraverso il filtro; conclude quindi che i suoi studi sembrano dimostrare che le formazioni intracellulari descritte come parassiti nel vaccino, nel vaiolo nella *clavelée* non potrebbero essere considerate come parassiti. All'opposto, sempre nel 1902, il Bosc, completando le ricerche precedenti, descrive minutamente i corpuscoli della *clavelée* e crede di potervi riconoscere un vero processo evolutivo che conduce ad una riproduzione. Questa avverrebbe : 1° per frammentazione o polverizzazione; 2° per un processo di cariocinesi. Esisterebbe anche un processo per divisione semplice. I parassiti sarebbero dunque esseri viventi paragonabili agli Sporozoi.

***

Non intendo certamente di citare la estesissima letteratura sul cancro, ma voglio ricordare che anche in questi tumori si trovano inclusioni cellulari, di cui alcune simili a quelle del vaiolo e del vaccino e che anche sulla natura di esse i vari autori sono assolutamente discordi.

***

Da questi cenni storici risulta chiaramente come la questione sia ben lungi dall'essere risoluta, e come le ricerche dei vari autori invece di stabilire almeno alcune nozioni sui parassiti del vaccino, colle loro contraddizioni rendano incerto qualsiasi punto. Dopo il lavoro del l'Hückel fino agli ultimi tempi sembrava accertata se non altro la speci ficità dei corpuscoli vaccinici, ora, il lavoro di Sikorski viene a negare anche quella.

Nessuna luce può venire dal criterio dell'analogia, perchè in tutte le questioni affini esistono le medesime incertezze.

PARTE PRIMA

CARATTERI E PROPRIETÀ DEI CYTORYCTES VACCINÆ

Il mio lavoro, come ho già detto, è stato intrapreso colla speranza di dimostrare la natura parassitaria dei *Cytoryctes*. Siccome tra i principali argomenti portati a sostegno di tale ipotesi vi sono i caratteri dei *Cytoryctes* stessi (la loro forma, la loro struttura, e le loro proprietà, cioè la supposta moltiplicazione e i tanto contrastati movimenti ameboidi) e su questi punti vertono le maggiori discussioni ed esistono le più gravi contraddizioni, ho incominciato da questi il mio studio nella lusinga di chiarire le cause dei contrasti.

Non mi sono più occupata di quelle ipotesi che (come per esempio la supposta derivazione dei *Cytoryctes* dai leucociti o dai nucleoli, ecc.) erano già state da altri esaminate e contraddette con argomenti tali da far ritenere inutile una ulteriore discussione.

I. — Confronto tra le proprietà dell'epitelio corneale di coniglio innestato con vaccino e quelle delle pustole vacciniche delle vitelle.

Per studiare le proprietà dei *Cytoryctes* mi sono valsa dell'epitelio corneale di Coniglio innestato con vaccino, come hanno fatto la maggior parte degli autori dopo la scoperta di Guarnieri. Infatti l'epitelio corneale di Coniglio innestato con vaccino, che per brevità chiamerò col Gorini *virus corneale*, presenta sulla pustola di Vitella il vantaggio di essere assai più agevole a procurarsi e ad

adoperarsi, e di costituire un materiale di studio relativamente semplice.

Prima però di cominciare le mie ricerche mi sono domandata se il virus corneale, potesse servire per uno studio completo del parassita del vaccino.

Non vi è dubbio che nell' epitelio corneale del Coniglio il parassita del vaccino, qualunque esso sia, si conservi e si riproduca. Già il Guarnieri nel 1897 ha voluto accertarsi se col virus corneale si potesse riprodurre negli animali recettivi il processo morboso nella classica forma pustolare. Egli coll' innesto di lamelle epiteliali di cornea di Coniglio previamente innestata con vaccino, riuscì ad ottenere le classiche pustole su parecchie Agnelle e su di un Vitello, e da queste pustole così ottenute, ha poi riprodotto nelle cornee di Conigli l'infezione caratteristica.

Anche von Wasielewski ha tramesso l'infezione vaccinica da Coniglio a Coniglio per 46 generazioni con l'innesto dell' epitelio corneale, dimostrando così che nell' epitelio corneale il parassita del vaccino non si attenua, anzi trova un mezzo favorevole di propagazione.

Tutto questo però non basta ancora a dimostrare che nel l'epitelio corneale il parassita del vaccino compia tutto il suo ciclo di sviluppo. Infatti non è escluso che anche il parassita del vaccino, a somiglianza di altri parassiti, possa compiere la sua vita in ambienti differenti.

È noto, per esempio, che inoculando in un individuo sano il sangue di un individuo malarico, si produce nel sano la malaria, pure il parassita malarico non si trova nel sangue se non in un periodo della sua vita. Qualche cosa di simile si poteva supporre che avvenisse per il parassita del vaccino nell' epitelio corneale di Coniglio.

Per decidere la questione, ho cercato di constatare se il virus corneale godesse di tutte quelle proprietà, che presenta il vaccino tratto dalle pustole di Vitella ; il poter sottostare agli stessi trattamenti avrebbe fornito un buon criterio per concludere che nel virus corneale e nel virus vaccinico si trovano gli stessi elementi in eguali condizioni.

La prima notissima proprietà del vaccino è quella di conservarsi in glicerina. Debbo ricordare a questo proposito come fin dal

1890 (1) il Prof. Leoni abbia pubblicato i resultati dei suoi studi sperimentali fatti nell' Istituto vaccinogeno di Roma da lui fondato nel 1883, i quali dimostrarono che « Il vaccino conservato da qualche tempo in glicerina, rappresenta un materiale di innesto spoglio di elementi patogeni e solo specificamente efficace. » Questi resultati furono poi universalmente riconosciuti esatti. Ho dunque cercato di vedere se anche il virus corneale potesse conservarsi nello stesso modo.

Esperimenti in questo senso erano già stati fatti da Gorini, il quale aveva dimostrato come il raschiamento di cornee vaccinate avesse conservato per 73 giorni in glicerina il proprio potere di trasmissibilità sopra altre cornee di Coniglio. Inoltre col raschiamento di cornee vaccinate conservato in glicerina, una volta per 15 giorni in refrigerante, un' altra volta, per 24 ore alla temperatura ambiente, ottenne anche lo sviluppo di pustole vacciniche nei bambini.

Le mie esperienze hanno dato resultati analoghi a quelli di Gorini.

Le cornee di Coniglio vaccinate asportate 3 giorni dopo l'innesto, furono tenute in glicerina pura. Colla raschiatura dell' epitelio di queste cornee ho innestato altri Conigli, una prima volta colla raschiatura di cornea rimasta in glicerina per 3 ore, una altra volta colla raschiatura di cornea stata in glicerina 24 ore. In tutti e due i casi ho ottenuto l'infezione, anzi nella cornea innestata col l'epitelio rimasto in glicerina 24 ore ho riscontrato una quantità grandissima di *Cytoryctes*, forse superiore a quella normale. Mi è parso inutile continuare in queste esperienze ritenendo già sufficientemente dimostrata la proprietà del virus corneale di conservarsi in glicerina.

Un' altra proprietà notissima (2) del vaccino è quella di resistere al disseccamento, tanto che tra i metodi di conservazione del vaccino, prima che venisse generalmente adottata la conservazione in glicerina, vi era quello di preparare la polvere delle pustole disseccate, e di servirsene bagnandola in acqua e glicerina.

Un altro metodo era quello delle punte di avorio che consisteva

(1) *Rivista d'igiene e sanità pubblica.*

(2) Le notizie intorno alle proprietà del vaccino furono prese dal WARLOMONT, *Traité de la vaccine et de la vaccination humaine et animale.*

nell' immergere alcune punte di avorio nel contenuto delle pustole vacciniche, di farle seccare al sole ardente o al fuoco alla temperatura di 30° o 40° C. per un quarto d'ora. Si coprivano poi di una sostanza per proteggerle, e si adoperavano bagnandole con acqua tiepida.

Prima di provare l'azione del disseccamento sul virus corneale, ho voluto sperimentare sulla cornea di Coniglio l'azione della pustola vaccinica di Vitella disseccata. Ho fatto gli esperimenti due volte, in tutti e due i casi ho ottenuto l'infezione, ma piuttosto debole, nell' epitelio corneale di Coniglio.

Ho poi ripetuto gli esperimenti adoperando il virus corneale. Per il disseccamento ho procurato di attenermi alle stesse norme usate per la preparazione delle punte di avorio.

Le cornee asportate tre giorni dopo l'innesto, venivano poste alla temperatura di 30°-40° C. dove erano lasciate finchè apparivano del tutto secche; per questo occorrevano circa due ore, ed anche più. Dopo le lasciavo ancora due o tre giorni alla temperatura ambiente, dopo di che, raschiavo i pezzettini di epitelio ed innestavo con essi un altro Coniglio. Gli esperimenti furono ripetuti 5 volte adoperando le cornee secche senza ribagnarle e 2 volte facendo rigonfiare nell' acqua le cornee disseccate, prima di adoperarle. I resultati furono i seguenti.

1° Delle due cornee disseccate, una sola fu adoperata per l'innesto, l'altra fu conservata per l'esame microscopico. Nel Coniglio innestato coi frammenti secchi di epitelio si è prodotta una infezione debole.

2° Tutte e due le cornee furono disseccate e adoperate per l'innesto. Le cornee disseccate non furono fatte rigonfiare nell' acqua. Coi frammenti dell' una ho innestata una cornea di un Coniglio e coi frammenti dell' altra, l'altra cornea dello stesso Coniglio. In tutte e due le cornee si produsse la solita infezione. Le cornee asportate 3 giorni dopo l'innesto e sezionate presentavano molti *Cytoryctes*.

3° Ho adoperato per l'innesto una sola cornea disseccata, senza bagnarla. Ho ottenuto resultato negativo.

4° Ho adoperato anche in questo caso una sola cornea disseccata non ribagnata per l'innesto. Ho avuto resultato negativo come nel caso precedente.

5° Con tutte e due le cornee disseccate, non bagnate, ho innestato

le due cornee di un altro Coniglio. Ho ottenuto in questo un'infezione normale, con presenza di numerosi *Cytoryctes* in tutte e due le cornee.

6° Dopo aver disseccato le cornee col solito metodo, le ho rimesse nell'acqua distillata e ve le ho lasciate un po'più di 2 giorni. Una delle due cornee fu conservata per l'esame microscopico, l'altra fu adoperata per innestare una cornea di un altro Coniglio. Ho fissato però quel che era rimasto, dopo aver raschiato i frammenti per l'innesto. Ha prodotto un'infezione normale con numerosi *Cytoryctes*.

7° Ho ripetuto l'esperimento nello stesso modo. Tutte e due le cornee prima disseccate e poi rigonfiate nell'acqua distillata furono adoperate per innestare le due cornee di un Coniglio. In tutti e due gli occhi si è prodotta un'infezione normale con numerosi *Cytoryctes*. Ho innestato un altro Coniglio coll'acqua in cui erano state per 2 giorni le cornee disseccate. Non ho avuto nessuna infezione.

Mi pare di poter concludere da queste esperienze che anche il virus corneale resiste al disseccamento. I resultati negativi ottenuti nei casi 3° e 4°, credo debbano attribuirsi alle difficoltà incontrate nel raschiare il materiale dalla cornea disseccata. Trattandosi di un materiale molto duro può essere che raschiando sia saltato via il frammento di epitelio infetto e siano stati inoculati invece frammenti sani.

Un'altra proprietà del vaccino è quella di resistere all'acqua distillata. Nell'opera citata di Warlomont si legge in più punti che l'acqua non altera sensibilmente le proprietà del vaccino. Inoltre a proposito di un sistema speciale di chiusura dei tubi di vetro usati per conservare il vaccino, è ricordato che il chimico Melsen, avendo ricevuto il 25 novembre 1871 quattro piccoli tubi con vaccino di Bambini, li travasò, vi aggiunse circa 10 volte il loro volume di acqua e versò questo miscuglio in 5 tubi nuovi, che chiuse col suo sistema. Il 27 giugno 1874, cioè, tre anni e mezzo dopo, questo vaccino era ancora attivo.

Non mi consta che recentemente siano stati ripetuti esperimenti di questo genere.

Gli esperimenti da me fatti sottoponendo all'azione dell'acqua distillata l'epitelio corneale vaccinato di Coniglio mi hanno dato i seguenti resultati :

1° Le cornee vaccinate asportate tre giorni dopo l'innesto, furono lasciate in acqua distillata per tre giorni, poi ne furono raschiati frammenti di epitelio e con questi fu innestato un altro Coniglio. In esso si sviluppò l'infezione normale.

2° Le cornee vaccinate, asportate tre giorni dopo l'innesto, furono lasciate in acqua per quattro giorni. L'epitelio si distaccava via quasi tutto. Coi pochi pezzetti rimasti ho innestato un altro Coniglio ed ho ottenuto l'infezione normale.

3° Le cornee vaccinate furono lasciate nell'acqua per nove giorni. Dopo questo tempo l'epitelio si era tutto distaccato e l'acqua era diventata torbida. Ho innestato le cornee di un Coniglio introducendo nei tagli l'acqua torbida raccolta negli strati superficiali. Si è manifestata l'infezione in un occhio solo.

4° Avendo tentato alcuni esperimenti sulla filtrazione, ho lasciato delle cornee vaccinate per sette giorni nell'acqua distillata, facendo agire il filtro in modo continuo. Dopo questo tempo col materiale solido non passato attraverso il filtro, ho innestato in un occhio un Coniglio. Ho ottenuto l'infezione normale.

Evidentemente, dunque, anche il virus corneale non si altera sensibilmente nell'acqua distillata.

Siccome il virus corneale gode di tutte le proprietà del vaccino (resistenza alla glicerina, al disseccamento e all'acqua distillata), si può concludere che nell'epitelio corneale vaccinato di Coniglio si devono trovare tutte e le stesse forme che si trovano nelle pustole vacciniche e nella linfa vaccinica; e precisamente, nell'ipotesi che si tratti di un Protozoo, tutti i suoi stadi di sviluppo. Il metodo introdotto da Guarnieri può quindi veramente servire per uno studio completo del parassita del vaccino, qualunque esso sia.

II. — Struttura dei Cytoryctes.

La struttura dei *Cytoryctes* essendo un dato della massima importanza per la determinazione della natura di essi, è stata oggetto di studi minuziosi da parte dei varî autori. Quelli che hanno creduto di poter ammettere la natura parassitaria dei corpuscoli vaccinici, hanno dimostrata la tendenza a distinguere, almeno in alcune forme, una parte che interpretarono come nucleo ed un' altra che ritennero uno straterello di protoplasma, gli autori che

non ne ammisero la natura parassitaria naturalmente non approvarono questa interpretazione.

Non riferirò certo tutte le descrizioni dei vari osservatori, che sarebbe un lavoro molto lungo. Un riassunto analitico molto esatto di tutte le principali opere comparse fino al 1901 si trova nel lavoro di von Wasielewski (1) ed a questo rimando il lettore. Io ricordo solo che, in generale, quasi tutti gli autori distinsero due sorta di corpuscoli vaccinici; gli uni tondeggianti omogenei, gli altri di forma irregolare muniti di granuli, forme che furono interpretate in vario modo.

Lo studio più completo apparso sulle inclusioni cellulari che si osservano nella cornea di Coniglio innestata con vaccino è senza dubbio quello di Hückel. Hückel, adoperò quasi esclusivamente nelle sue esattissime e bellissime ricerche, come fissativo la soluzione satura di sublimato con cloruro di sodio, come colorante la miscela di Biondi. Con questo mezzo, come ho già detto nei cenni storici, potè distinguere i corpuscoli vaccinici dalle inclusioni cellulari che si possono ottenere anche indipendentemente dal vaccino, osservando che solo i corpuscoli vaccinici, colla miscela di Biondi, assumono il colore azzuro. Studiando accuratamente questi corpuscoli vaccinici ritenne di poterli raggruppare in 7 tipi:

1° Corpuscoli nudi, i quali si presentano coloriti soltanto in azzurro, senza nessun contorno periferico rosso, nè granuli rossi, ecc. Sono per lo più sferici od ovali, a volte lenticolari, cilindrici, ecc. Spesso presentano uno o più strozzamenti. La loro grandezza varia da punti appena visibili coi più forti ingrandimenti, a corpuscoli del diametro di 3 μ;

2° Corpuscoli con mantello eritrofilo; hanno la parte centrale colorita in azzurro, ed un mantello periferico rosso che, o costituisce solo un orlo, o involge per un largo tratto la massa azzurra. Il limite tra lo strato rosso e la parte azzurra a volte è nettamente definito, ma spesso il passaggio dall'uno all'altra avviene insensibilmente. Il contorno dello strato rosso a volte è irregolarmente delineato, a volte è regolare; raramente partono dallo strato periferico frammenti o fili radiali che lo congiungono alla cellula epiteliale;

3° Corpuscoli sferici circondati da una zona di granuli: essi

(1) Von Wasielewski, *Beiträge zur Kenntniss des Vaccine-Erregers.*

sono i più numerosi. I granuli rossi si presentano accanto alla massa azzurra, e sono variabili di forma, di numero e di grandezza. A volte stanno aderenti alla massa azzurra, altre volte ne sono distaccati;

4° Corpuscoli sferici azzurri, congiunti con filamenti al protoplasma. In questi corpuscoli i filamenti sono disposti radialmente; vanno dal corpuscolo al protoplasma cellulare attraverso lo spazio chiaro, e sono coloriti in rosso più intensamente del protoplasma. Il loro numero è molto variabile;

5° Corpuscoli semilunari, falciformi, fusiformi, ecc. Compaiono più tardi dei corpuscoli sferici, ma non ad un momento determinato. La loro colorazione va dall'azzurro chiaro all'azzurro molto scuro o bleu violetto. La loro posizione è varia; quasi sempre sono forniti di granuli eritrofili per lo più in numero considerevole; spesso presentano filamenti rossi che li congiungono al protoplasma;

6° Corpuscoli triangolari, o meglio, piramidali; azzurri. A volte mancano a volte sono rari, eccezionalmente sono abbondanti. Spesso sono circondati da granuli o goccioline rosse e provvisti di particelle rosse attaccate alla massa azzurra;

7° Corpuscoli singolari, i quali non trovano posto nei gruppi precedenti e presentano relativamente frequenti forme che abbracciano per un gran tratto il nucleo della cellula epiteliale.

Dopo queste ricerche di Hückel, per molto tempo non furono aggiunti nuovi particolari intorno alla struttura dei *Cytoryctes*, anzi si cercarono piuttosto dei criteri per limitare il numero delle forme da considerare come parassiti non degenerati, perchè in realtà, l'enorme quantità di figure descritte dall'Hückel fa pensare assai più a prodotti di alterazione che ad esseri viventi.

Il Guarnieri nel suo lavoro più recente si occupa ancora della struttura dei corpuscoli vaccinici ed in alcuni elementi trova che si può distinguere in modo assai chiaro un citoplasma ed un nucleo. Dice: « il nucleo mostrasi d'ordinario eccentrico alla massa citoplasmatica, e posto verso la superficie di essa, dalla quale talvolta fa sporgenza. Esso appare come uno spazio circolare o leggermente ovoideo, con la periferia regolarmente limitata. Questo spazio circolare che rappresenta a mio giudizio la sezione ottica di una vescicola contiene nel suo interno una sostanza omogenea che assume assai tenuamente le materie coloranti. La

vescicola nucleare oltre la sostanza trasparente e lievemente colorabile che essa contiene e che credo debba considerarsi come succo nucleare, accoglie anche un corpicciuolo che presenta le reazioni proprie della cromatina. A me è sembrato che questo corpicciuolo possa essere considerato come un cariosoma. »

In altri elementi invece del nucleo vescicolare si avrebbe, nella stessa posizione relativamente al protoplasma, un corpicciuolo cromatico che sostituirebbe il nucleo.

La figura di nucleo vescicolare con un cariosoma, descritta dal Guarnieri, non era stata descritta da nessuno degli autori precedenti, e non mi sembra possa essere riconosciuta in nessuna delle figure descritte da Hückel. Era quindi molto importante cercare di riottenere queste figure così complesse.

Passo ora ad esporre i resultati delle mie ricerche personali.

Ho adoperato, come ho detto, l'epitelio corneale di Coniglio. Per praticare l'innesto del vaccino procedevo nel seguente modo. Con una lancetta lavata nell'acqua bollente praticavo, possibilmente nella parte centrale della cornea, tre o quattro tagli paralleli, poco profondi, lunghi più che mi fosse possibile. Questo sistema mi è parso più comodo di quello delle punture praticate con aghi perchè permette di avere una larga superficie infetta, e nelle sezioni dà modo di orientare il pezzo in maniera da avere tagli perpendicolari alle ferite e presentanti in un solo preparato le varie forme che si osservano a maggiore o minor distanza dal punto di inoculazione. Avendo continuato le ricerche per due anni ho innestata una grandissima quantità di Conigli.

Salvo due o tre eccezioni avute nelle prime volte, dovute certamente alla mia inesperienza, in tutti gli altri casi, quando ho innestato nei Conigli linfe attive, si è prodotta la nota infezione. Non l'ho ottenuta invece con iniezioni di vaccini assai vecchi, già dimostrati inattivi sui Bambini. Questo concorda con quanto hanno già osservato tutti gli altri autori, e col fatto stabilito da Gorini che la reazione del vaccino sull'epitelio corneale di Coniglio è il criterio da consigliarsi per giudicare la bontà del vaccino. Ho voluto accennarlo, per dimostrare che hanno un valore assoluto le ricerche sull'attività del virus corneale sottoposto a vari trattamenti, attività stabilita per mezzo degli innesti sull'epitelio corneale di Coniglio.

Ricerche di controllo. — Prima di procedere allo studio dei *Cytoryctes*, ho voluto esaminare quelle forme di inclusioni cellulari che possono ottenersi per semplice azione meccanica, e quindi possono trovarsi anche nell'epitelio corneale innestato con vaccino, e venir confuse coi veri corpuscoli vaccinici. Dopo aver letto il riassunto del lavoro di Sikorsky, ho voluto anche verificare se colla tossina difterica si ottenessero realmente nell'epitelio corneale di Coniglio forme paragonabili ai corpuscoli di Guarnieri.

Per lo studio delle alterazioni, che si ottengono nelle cellule dell'epitelio corneale di Coniglio per semplice azione meccanica, una prima volta ho praticato nella cornea una profonda incisione circolare in modo da lasciar la cornea sospesa al bulbo oculare solo per qualche tratto. Dopo due giorni e mezzo la cornea per un esteso tratto in corrispondenza della parte libera era divenuta opaca. Ucciso il Coniglio, fu asportata la cornea, fissata con soluzione satura di sublimato con 0,50 °/₀ di cloruro di sodio. Le sezioni furono colorite colla miscela di Biondi o coll'emallume.

In alcuni preparati ottenuti colla miscela di Biondi, a volte il protoplasma presentava dei punti più intensamente coloriti che apparivano quali ispessimenti. Questi ispessimenti si trovavano più o meno vicini ad uno dei poli del nucleo (tav. VIII, fig. 9). In altri preparati che ritengo provenienti da quel pezzo di cornea che era divenuto opaco, coloriti per mezzo della miscela di Biondi, si vedevano nel protoplasma una quantità di granuli di color rosso intenso. Le loro dimensioni erano delle più svariate; i più piccoli erano appena visibili, i più grandi, meno numerosi, potevano raggiungere una superficie presso a poco eguale alla quarta parte di quella del nucleo di una cellula epiteliale (tav. VIII, fig. 10). In nessun preparato colorito colla miscela di Biondi, ho trovato inclusioni cellulari che assumessero il colore azzurro dei corpuscoli vaccinici.

In alcuni preparati coloriti coll' emallume i nuclei delle cellule epiteliali si vedevano profondamente alterati. Alcuni presentavano strozzature e sporgenze irregolari le quali mostravano la tendenza a separarsi dal resto del nucleo. Molte volte accanto ai nuclei si vedevano frammenti separati, coloriti come i nuclei stessi. Questi frammenti erano circondati da un alone chiaro, come pure i nuclei delle cellule epiteliali. L'alone del frammento a volte si

continuava con quello del nucleo, a volte ne era separato. In tutti e due i casi questi frammenti vicini ai nuclei e circondati da un alone chiaro potevano facilmente venir scambiati con veri *Cytoryctes* (tav. VII, fig. 1).

Credo che il Gorini, quando accenna alla possibilità della derivazione dei *Cytoryctes* dai nuclei si riferisca appunto a queste forme che possono anche ottenersi indipendentemente dall'innesto del vaccino.

In altri preparati, ottenuti colle cornee, in cui fu praticato solo il taglio colle stesse norme usate per l'innesto del vaccino, fissate colla soluzione satura di sublimato con 0,50 °/₀ di cloruro di sodio, colorite colla miscela di Biondi, nella vicinanze del luogo in cui fu praticato il taglio molte cellule presentavano nel protoplasma punti più intensamente coloriti che apparivano come ispessimenti protoplasmatici. S'incontravano inoltre numerose figure di carioplasmolisi. In queste figure si vedevano numerose sferettine colorite in rosso o in verde, non compariva il colore azzuro che i corpuscoli vaccinici assumono colla miscela di Biondi.

Per studiare gli effetti prodotti dall'inoculazione di tossina difterica, ho inoculato nelle cornee di due Conigli, col metodo usato per l'innesto del vaccino, la tossina difterica sciolta in toluolo, come mi fu inviata dall' Istituto Sieroterapico di Milano. Uno dei Conigli fu ucciso tre giorni dopo l'inoculazione, l'altro quattro giorni dopo. Le cornee macroscopicamente si presentavano opache nel luogo ove furono praticati i tagli, ma all' esame microscopico, nè in quelle asportate tre giorni dopo l'innesto, nè in quelle asportate dopo quattro giorni, ho potuto riscontrare inclusioni cellulari che si potessero confondere coi *Cytoryctes*. L'argomento meriterebbe ulteriori ricerche, per poter venire a una conclusione.

Esame a fresco dei corpuscoli vaccinici. — Per lo studio dei *Cytoryctes* a fresco ho esaminato la raschiatura dell'epitelio corneale vaccinato di Coniglio, osservandolo nelle lacrime del Coniglio stesso, come già fece Guarnieri, nella soluzione fisiologica di cloruro di sodio, nella miscela di acqua e glicerina in parti eguali. Quest'ultimo mezzo è quello che meglio si presta per distinguere i *Cytoryctes* con grande facilità.

I *Cytoryctes* osservati a fresco si possono distinguere in due sorta. Alcuni appaiono costituiti da una massa compatta, molto

rifrangente (tav. VIII, fig. 16), d'una rifrangenza paragonabile a quella dei nucleoli. Queste masse hanno per lo più forma tondeggiante. Altri corpuscoli invece sono più grandi, hanno forme più irregolari, appaiono composti di una massa poco splendente, sulla quale sono disposti tanti granuli molto splendenti. L'insieme della massa e dei granuli sovrastanti appare meno splendente dei piccoli *Cytoryctes* tondeggianti (tav.VIII, fig. 16).Tanto nelle prime che nelle seconde forme io non ho osservato la presenza di un alone chiaro e ritengo quindi che l'alone sia una formazione artificiale. Von Wasielewski dice che negli esami a fresco dell'epitelio corneale vaccinato, osservato in una debole soluzione di acido osmico o acetico osserva i *Cytoryctes* giacenti in un vacuolo. Credo che questo vacuolo sia prodotto dall'acido adoperato per l'osservazione.

Bisogna osservare che in queste ricerche l'attenzione è attratta particolarmente da quei corpicciuoli splendenti che giacciono nelle cellule epiteliali accanto ai nuclei, in nicchie scavate nei nuclei stessi, perchè questi corpicciuoli si rivelano subito evidentemente quali *Cytoryctes*, ma si vedono inoltre una quantità di piccoli granuli splendenti distribuiti irregolarmente in molte cellule epiteliali, simili ai granuli che rivestono le forme più grandi di *Cytoryctes*; a questi granuli sparsi, a volte numerosissimi tanto in cellule epiteliali con *Cytoryctes*, quanto in altre, non è facile dare un' interpretazione.

Esame delle sezioni. — Dopo le numerosissime descrizioni date dai vari autori, l'esame dei *Cytoryctes* per mezzo delle sezioni era necessario sopratutto per poter stabilire uno dei punti più contrastati, cioè la possibilità di distinguere almeno in alcuni dei corpuscoli vaccinici, la presenza di un nucleo e di un protoplasma.

Io ho adoperato come fissativi, o la soluzione satura di sublimato con 0,50 °/o di cloruro di sodio, o il liquido di Flemming o la soluzione di acido acetico al 5 °/o (quest'ultimo mezzo venne adoperato per vedere se scomparivano, almeno in parte, i granuli, secondo quanto aveva visto Hückel nelle osservazioni a fresco). Come mezzi di colorazione ho adoperato l'emallume, il carminio boracico. l'ematossilina ferrica di Heidenhain, l'emallume acidulato, l'ematossilina di Delafield acidulata, la miscela di Biondi. Prima di riferire i resultati ottenuti, ricordo che, come aveva già osservato anche Guarnieri, nelle sezioni di cornee vaccinate, non

colorite, osservate in acqua distillata, i *Cytoryctes* si distinguono benissimo perchè spiccano su tutto il resto per la loro grande rifrangenza.

Un altro modo assai comodo per osservare facilmente i *Cytoryctes* consiste nel chiudere le sezioni in glicerina diluita, senza colorazione. I preparati così fatti se vengono lutati con paraffina e con mastice si conservano assai a lungo.

Nelle sezioni di cornee, fissate con sublimato, colorite con emallume o con carminio boracico, i particolari relativi alla struttura dei *Cytoryctes* non risultano evidenti. I *Cytoryctes* appaiono come corpicciuoli coloriti meno intensamente dei nuclei delle cellule epiteliali, e sono circondati da un alone chiaro. I granuli non appaiono evidenti, i leucociti si distinguono con gran facilità perchè sono coloriti assai intensamente, più intensamente dei nuclei delle cellule epiteliali.

Resultati assai migliori furono ottenuti coll'ematossilina ferrica di Heidenhain.

Con questo mezzo, nelle cornee fissate in sublimato, quando si spinga la decolorazione fino a che i nuclei delle cellule epiteliali siano quasi del tutto scoloriti, i *Cyctoryctes* risaltano in modo mirabile (tav. VIII, fig. 2). I più piccoli tondeggianti, si vedono quali masse compatte intensamente colorite in nero. Queste forme si trovano specialmente alla parte periferica del tratto di epitelio infetto, ossia nei punti più distanti dalla ferita, ma non mancano neanche nelle parti centrali. Il loro numero è vario; in un preparato di cornea asportata quattro giorni dopo l'innesto, ne ho contati 7 in una sola cellula. La loro posizione è variabilissima, non sempre sono collocati in vicinanza dei nuclei e questo, come ha già osservato anche von Wasielewski, è contrario all'ipotesi che i *Cytoryctes* derivino dai nuclei delle cellule epiteliali.

Verso il centro dell'infezione, si notano forme più grandi, a contorni più o meno irregolari, in cui la parte periferica è più intensamente colorita della parte centrale. Questi corpuscoli hanno forme differenti, alcuni sono tondeggianti, altri presentano una strozzatura centrale, altri una strozzatura che li divide in due parti assai ineguali.

Altre forme più grandi hanno i margini a contorni smerlati che accennano alla formazione di tanti granuli, verso la periferia.

Infine nelle cellule che si trovano più vicine al luogo della ferita e specialmente in quelle che si trovano nei lembetti di epitelio sollevati e prossimi a distaccarsi, si vedono i corpuscoli più grandi, dalle forme più svariate. Questi corpuscoli, che mancano nelle cornee vaccinate asportate nei primi due giorni dopo l'innesto, appaiono costituiti da una massa omogenea, poco colorita, più o meno ricoperta da una quantità di granuli coloriti intensamente, di dimensioni svariate. I granuli stanno alla superficie della massa poco colorita, alcuni si vedono anche allontanati dalla massa e disposti irregolarmente nel protoplasma della cellula epiteliale. Osservando con forte ingrandimento in alcuni casi è possibile scorgere dei fili sottilissimi che congiungono i granuli tra loro in modo da formare come una rete. I granuli si trovano nei punti d'incontro dei fili.

In preparati di cornea asportata 7 giorni dopo l' innesto, vi erano ancora numerosissime le forme più piccole tondeggianti. Nelle scarse cellule epiteliali rimaste attorno ai margini della ferita, si vedevano i corpuscoli grandi scoloriti privi di granuli.

I preparati ottenuti colla doppia colorazione con ematossilina ferrica ed eosina, per quanto riguarda i *Cytoryctes*, differiscono assai poco da quelli ora descritti. Solo eccezionalmente, intorno ad alcune delle forme tondeggianti, si osserva un sottile contorno roseo, ma il limite di questo contorno verso la parte del corpuscolo vaccinico colorita in nero, non è definito nettamente.

Non sempre i corpuscoli vaccinici presentano un alone chiaro a contorno ben determinato; nella maggior parte dei casi, essi presentano tutto intorno una zona chiara che si continua colla zona chiara che circonda i nuclei. Questo fatto conferma che l' alone deve ritenersi una formazione artificiale.

Nelle sezioni di cornee fissate con liquido di Flemming, colorite con l' ematossilina ferrica di Heidenhain, i corpuscoli vaccinici presentano ben spiccata una struttura alveolare che si vede, nelle forme più grandi e in quelle di media grandezza (tav. VIII, fig. 1*d*). Negli angoli formati dall' incontro delle pareti degli alveoli si vedono i granuli. Presso a poco è la stessa struttura che si osserva, con maggior difficoltà, nei preparati ottenuti colla fissazione in sublimato.

La fissazione con acido acetico al 5 % dà resultati analoghi alla

miscela di Flemming. Si vedono ancora gli alveoli coi granuli negli angoli formati dall' incontro delle pareti (tav. VIII, fig. 1 *a*, *b*, *c*).

Di grande effetto sono i preparati ottenuti colla miscela di Biondi. Seguendo le indicazioni di Hückel, ho potuto avere sezioni sottilissime di cornea di Coniglio con questo sistema. Dopo aver messo una prima volta le cornee in paraffina, avendo cura di conservare solo i frammenti infetti per avere piccole superficie poco convesse, ho tagliato col microtomo, per quanto mi è stato possibile, gli strati connettivali riducendo i pezzi a sottili lamine composte quasi soltanto degli strati epiteliali. Rimessi nuovamente i pezzi in paraffina li ho sezionati di nuovo, normalmente alla superficie epiteliale, così ho potuto ottenere sezioni dello spessore di 3 μ.

Per la colorazione ho seguito ancora le norme indicate da Hückel, ma per avere gli stessi resultati ho dovuto adoperare soluzioni molto più concentrate di quelle da lui usate (1).

Dopo parecchi tentativi sono riuscita ad avere buonissimi preparati, i quali mi hanno permesso di constatare l'esattezza delle osservazioni di Hückel.

Avendo riferito prima la descrizione dei diversi gruppi di corpuscoli vaccinici, quale è stata data da questo autore non ritornerò ora a ripetere presso a poco le stesse cose descrivendo i miei preparati; posso dire di aver visto tutti i tipi di corpuscoli vaccinici descritti da Hückel. Non ho riscontrato l'esistenza di tutte le forme descritte come figure di degenerazione, ma ciò perchè mi sono servita specialmente di cornee di Coniglio asportate due giorni e mezzo o tre giorni dopo l'innesto, mentre le forme osservate da Hückel comparivano più tardi.

Sebbene i preparati fatti colla miscela di Biondi siano più appariscenti di quelli fatti con altre colorazioni, perchè fanno spiccare subito i granuli, coloriti in rosso, sulla massa fondamentale colorita in azzurro, e presentano l'altro vantaggio di colorire i leucociti in verde, cioè diversamente dai corpuscoli vaccinici, tuttavia non permettono di riconoscere nei corpuscoli, maggiori particolari di quelli che si possono osservare coll' ematossilina ferrica di Heidenhain.

(1) Io ho dovuto adoperare la soluzione madre del Biondi, da me preparata colla polvere di Grübler, diluita all' 8 % o 10 %; l'Hückel adoperò la soluzione all' 1 % circa.

In alcuni preparati coloriti colla miscela di Biondi, ma fissati col sublimato alcoolico acetico (Mingazzini), si distinguono i granuli riuniti talora da filamenti sottilissimi, coloriti in rossatro (tav. VIII, fig. 12). A volte questi filamenti sembrano partire dalla massa azzurra, ed in tal caso tutto il corpuscolo assume un aspetto raggiato che credo sia quello descritto da Guarnieri nel suo più recente lavoro, dove parla delle forme di sporulazione. Ma girando opportunamente la vite micrometrica si vede che questo reticolo rosso è esterno al corpuscolo azzurro e spesso si continua col protoplasma della cellula epiteliale. Nei preparati coloriti col metodo di Biondi non ho trovato nessuna figura che potesse venire identificata colla forma descritta da Guarnieri, presentante un cariosoma ed un nucleo vescicolare. Per cercare di mettere in luce questa struttura, ho fatto sezioni sottilissime con cornee vaccinate asportate tre giorni dopo l'innesto, fissate in sublimato, le ho colorite coll' emallume acidulato oppure coll' ematossilina Delafield acidulata nel modo usato dal Bütschli per lo studio della struttura dei Bacteri. Questi preparati sono stati osservati a fortissimo ingrandimento per mezzo della luce artificiale. Coll'uno e coll'altro metodo si hanno i medesimi resultati salvo una diversa intonazione di tinta. Osservati in questo modo i corpuscoli tondeggianti di media grandezza presentano una struttura che sembra reticolare. Dal corpuscolo partono filamenti che lo congiungono col protoplasma della cellula epiteliale; questi filamenti si intrecciano attorno al corpuscolo stesso (tav. VII, fig. 2 *f*). Alla superficie del corpuscolo (per quanto risulta da quel che ho potuto vedere) si notano spesso masse intensamente colorite, di forma diversa e disposte in modo diverso. A volte si vedono due masse intensamente colorite poste l'una di fronte all'altra e lascianti nel mezzo uno spazio chiaro (tav. VII, fig. 2 *d*) altre volte si nota un'unica massa intensamente colorita (tav. VII, fig. 2 *f*), altre volte la parte intensamente colorita viene ad assumere una forma tondeggiante od ovalare e lascia nella parte centrale uno spazio chiaro (tav. VII, fig. 2 *c*, *e*). Questa forma rassomiglia più di tutte le altre a quella descritta da Guarnieri. Qualche volta la massa più colorita non forma un anello completo, ma un semicerchio sul quale si osservano granuli di colore intenso (tav. VII, fig. 2 *a*, *b*).

Prima di passare a considerazioni intorno alla struttura dei cor-

puscoli vaccinici, voglio accennare ancora alle forme di Micrococchi osservate dal Gorini e da lui messe in rapporto coi parassiti del vaccino.

Anch' io in alcuni preparati di cornea di Coniglio fissata con sublimato 14 ore dopo l'innesto, nella quale si distinguevano già alcuni pochi *Cytoryctes* nettamente riconoscibili, ho riscontrato le forme descritte da Gorini e precisamente i gruppi di quattro granuli in forma di Micrococchi. Io non ho dato una speciale importanza a queste forme che si presentavano con evidenti caratteri di Batteri, perchè ho ritenuto si trattasse di una di quelle forme di Tetracocchi già supposte parassiti del vaiolo e del vaccino e poi escluse (come per esempio il *Tetracoccus variolae* ritenuto un tempo dal Klebs il parassita del vaiolo, poi non più ammesso come tale, ritrovato poi dal Monti nello studio batteriologico delle pustole vaiolose e riconosciuto come un ben noto microfito dell'epidermide umana normale, e lo *Staphylococcus quadrigeminus* che Vanselow e Czaplewski isolarono dalla linfa vaccinica, coltivarono e credettero capace di riprodurre per una lunga serie di generazioni le classiche pustole, mentre poi con esperienze più accurate fu dimostrato innocuo).

Il Gorini crede di poter mettere in rapporto le forme da lui osservate coi parassiti del vaccino e ritiene il suo Tetracocco diverso da quello degli altri autori, perchè non coltivabile, ma osserva che i Micrococchi vanno scomparendo man mano che si sviluppano i *Cytoryctes*. Ora è noto che il virus corneale è attivo anche tolto dal Coniglio parecchi giorni dopo l'innesto (Von Wasielewski ottenne eccezionalmente resultati positivi con epitelio corneale di 21 giorno, ottenne costantemente resultati positivi con epitelio di 2-6 giorni). Per dimostrare che il Tetracocco che si vede nelle prime ore è la causa del vaccino bisognerebbe seguirlo nell' epitelio corneale anche dopo un certo tempo oppure dimostrare una almeno delle due ipotesi accennate da Gorini, cioè che i *Cytoryctes* possano essere una ulteriore evoluzione dei granuli, in forma di cocchi, o che i *Cytoryctes* possano essere il prodotto di alterazioni nucleari causate dai granuli stessi. Ma nessuna delle due ipotesi si presenta come probabile. La derivazione dei *Cytoryctes* dai nuclei è già stata contrastata con vari argomenti; che i *Cytoryctes* siano una evoluzione dei granuli appare inverosimile, perchè i granuli

hanno un aspetto tutto diverso dai *Cytoryctes* anche i più piccoli, si colorano molto più intensamente dei *Cytoryctes*, hanno dimensioni poco variabili, non si hanno forme di passaggio tra i granuli e i *Cytoryctes*, ecc.

***

Riflettendo intorno alla struttura dei *Cytoryctes* bisogna riconoscere che, per quanto si approfondiscano le ricerche, non si riesce a stabilire in essi nessun carattere di essere vivo.

La distinzione di un nucleo e di un protoplasma non si può dimostrare. L'orlo rosso che nei preparati coloriti colla miscela di Biondi circonda alcuni dei corpuscoli vaccinici non può interpretarsi come uno straterello protoplasmatico attorno ad un nucleo; esso manca nella maggior parte delle forme e molte volte si continua col protoplasma della cellula epiteliale per mezzo di filamenti che lo congiungono ad esso. Del resto, come osserva anche Hückel nelle figure di carioplasmolisi a volte si vedono sferettine ben diverse dai *Cytoryctes*, ma costituite anch'esse da una parte centrale e da un orlo periferico, coloriti con colori differenti. Ricordo a questo proposito anche gli studi di Fischer sul Protoplasma (1). Il Fischer adoperando vari albuminoidi e miscugli di sostanze albuminose, fissati e coloriti con vari mezzi, ottiene spesso sfere e corpuscoli allungati in cui la zona periferica assume un colore diverso dalla parte centrale. Quanto al nucleo vescicolare descritto da Guarnieri, credo possa venir identificato colle figure da me osservate nelle sezioni sottilissime di epitelio corneale colorito coll'ematossilina Delafield osservate a fortissimo ingrandimento (tav. VII, fig. 2*c*, *e*). Però dalle mie osservazioni risulta che le figure ad anello, le masse più intensamente colorite, si trovano non dentro al corpuscolo vaccinico, ma sopra di esso. Ritengo che questi supposti nuclei non debbano venir considerati come parti del corpuscolo vaccinico, ma come frammenti più coloriti di quella rete che ricopre più o meno completamente i corpuscoli stessi.

La mancanza di un nucleo nettamente differenziato dal protoplasma non prova ancora che i corpuscoli vaccinici non siano esseri viventi. Schaudinn ha dimostrato che in alcuni Batteri, per la maggior parte della vita, le sostanze nucleari sono distribuite

(1) Fischer, *Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas*. Iena, 1899.

per tutto il protoplasma e solo nella formazione delle spore vengono a costituire delle forme paragonabili al vero nucleo delle forme superiori. Anche nello sviluppo di alcuni Coccidi, ha osservato una fase in cui la cromatina del nucleo si diffonde per il citoplasma. Hertwig ha dimostrato che nell' Actinosferio i nuclei possono disciogliersi e dar luogo alla formazione di tanti cromidi sparsi per il protoplasma. Nei Monotalami oltre al nucleo e al protoplasma descrive anche una rete cromidiale. Dall' insieme delle osservazioni fatte sui *Cytoryctes*, risulta che essi presentano una massa che appare omogenea sulla quale sta un reticolo di filamenti (forse rappresenta una sezione di alveoli), con tanti granuli nei punti di incontro delle maglie ; questo reticolo in certi punti può dar luogo alla formazione di macchie. Si potrebbe pensare che i granuli e la rete rappresentino i cromidi ed una rete cromidiale, ma a questa interpretazione si oppone il fatto che i granuli ed i filamenti stanno alla superficie del corpuscolo e che si estendono anche al di là del corpuscolo vaccinico.

Altro fatto che impressiona e parla contro l'ipotesi della natura vivente dei *Cytoryctes* è la difficoltà di stabilire i limiti dei corpuscoli vaccinici.

Ricordo qui i tentativi fatti da parecchi per determinare i caratteri che permettono di distinguere un vero *Cytoryctes*. Il criterio proposto da Gorini per il quale i *Cytoryctes* diventano caratteristici quando assumono rapporti coi nuclei epiteliali, è già stato contrastato da von Wasielewski il quale giustamente osserva che si possono trovare piccoli granuli accanto al nucleo anche nelle inoculazioni di linfe sterili. Di più si può aggiungere che non sempre i *Cytoryctes* stanno vicini al nucleo, anzi spesso le forme più piccole ne stanno lontane. A sua volta von Wasielewski crede di poter ammettere come carattere distintivo tra i *Cytoryctes* e le inclusioni cellulari di altra origine, il trovarsi sempre i corpuscoli vaccinici in cellule in cui il protoplasma e il nucleo sono completamente normali, per quanto il nucleo possa presentarsi in divisione amitotica o mitotica, mentre nelle cellule che per la loro forma o posizione nel luogo d'inoculazione mostrano le tracce di alterazione o di degenerazione incipiente, si possono trovare piccoli granuli colorabili, simili alle più piccole forme di corpuscoli vaccinici, ma non tali da venir identificati con questi. Io posso dire di

aver trovato granuli e ispessimenti protoplasmatici anche in cellule che non presentavano vacuoli o altre tracce di degenerazione.

Quanto al criterio stabilito da Hückel e riscontrato esatto da tutti gli osservatori, che colla miscela di Biondi i corpuscoli vaccinici si colorano in totatità in azzurro, o in parte in rosso ed in parte in azzurro, si potrebbe opporre che anche esso può dar luogo ad equivoci perchè quando i preparati non riescono bene anche i corpuscoli vaccinici acquistano una tinta rossa. Aggiungasi che il Musso nei preparati fatti colla miscela triacida di Ehrlich ottiene i *Cytoryctes* coloriti in rosso.

Tuttavia se il criterio della colorabilità, è ancora il mezzo più sicuro che si abbia per distinguere i corpuscoli vaccinici dalle inclusioni cellulari di altra origine, non permette però di determinare i limiti dei corpuscoli vaccinici.

Per quanto riguarda i confini tra i corpuscoli vaccinici e la cellula, osservo che si vedono in moltissimi casi filamenti che vanno dal corpuscolo al protoplasma cellulare. Questi filamenti, nei preparati coloriti col liquido di Biondi, a volte hanno il colore del protoplasma cellulare, a volte sono costituiti da tanti granuli simili a quelli che si trovano sui corpuscoli vaccinici. Nei preparati coloriti coll' emallume acidulato o coll' ematossilina di Delafield acidulata, si vede che questi filamenti si continuano da una parte col protoplasma cellulare, dall' altra colla porzione periferica meno colorita del corpuscolo vaccinico, e costituiscono un passaggio dall' uno all' altra.

Per quanto concerne i limiti tra i corpuscoli vaccinici e le formazioni che certamente non sono di origine parassitaria, ricordo che le osservazioni di Hückel, di von Wasielewski e le mie hanno dimostrato che indipendentemente dall' innesto del vaccino si possono produrre nel protoplasma delle cellule epiteliali, granuli ed altre formazioni che colla miscela di Biondi si colorano in rosso e che sono in tutto eguali ai granuli e alla parte eritrofila dei corpuscoli vaccinici. Non si ha un criterio che permetta di separare i granuli appartenenti ai corpuscoli vaccinici da quelli di altra origine.

Si potrebbe pensare che l' essere vivente, causa del vaccino, fosse costituito soltanto da quella parte che si colora in azzurro, ma questa separazione non è logica perchè in molte figure la parte

azzurra e quella rossa sono riunite in modo da formare un tutto unico. Inoltre la parte che si colora in azzurro considerata separatamente non ha alcun sicuro carattere di essere vivo. Si presenta come una massa senza struttura distinguibile, di dimensioni variabili, di forma irregolare, colorita più intensamente nelle forme piccole, meno intensamente nelle grandi.

Si potrebbe pensare che i parassiti fossero i granuli rossi o alcuni dei granuli rossi che potrebbero appartenere ai Batteri, ma a questa interpretazione si oppongono parecchi fatti: l'irregolarità di forma e di dimensioni dei granuli, l'essere questi granuli riuniti tra loro per mezzo di filamenti, il non presentare i granuli nè la colorabilità nè altri caratteri di Batteri, il non potersi distinguere i granuli derivati dal virus vaccinico da quelli, che si ottengono per semplice azione meccanica.

La struttura dei corpuscoli vaccinici non fornisce nessun dato favorevole all' ipotesi parassitaria.

III. — Movimenti ameboidi

I movimenti ameboidi, che avrebbero tanto grande importanza per la dimostrazione della natura parassitaria dei *Cytoryctes*, non sono stati riscontrati che da pochi osservatori. L'Hückel, il quale in tutto il lavoro sui corpuscoli vaccinici si è dimostrato osservatore rigoroso ed esattissimo, non è riuscito a vederli. Egli discutendo intorno alle osservazioni di Guarnieri, di Monti di L. Pfeiffer e di E. Pfeiffer che li hanno riscontrati, trova che le osservazioni di Guarnieri non si presentano in modo tale da far ritenere escluso ogni errore, che Monti e L. Pfeiffer non determi nano a sufficienza quello che hanno osservato e che i movimenti visti da E. Pfeiffer non erano ameboidi. Von Wasielewski, che pure è favorevole all' ipotesi di Guarnieri, ritiene possibili i movimenti ameboidi, ma non dice di averli osservati, come negli ultimi tempi non li ha più osservati nessun autore all' infuori di Ishigami.

Io ho cercato anzitutto di verificare l'esistenza di movimenti ameboidi nei corpuscoli contenuti nell' epitelio corneale di Coniglio. Ho procurato di ripetere le esperienze nelle stesse condizioni in cui erano state eseguite da Guarnieri, e per questo ho raschiato l'epitelio corneale dai Conigli vivi, tre giorni dopo l'innesto, ed ho osservata questa raschiatura, attenendomi alle indicazioni di

Guarnieri, in preparati fatti a goccia pendente nelle lacrime di Coniglio, tenuti sul tavolino riscaldante alla temperatura di 35°-40° C. Ho osservato uno stesso preparato per ore consecutive e non mi è riuscito di riscontrare nei *Cytoryctes* nessun movimento, mentre ho potuto seguire benissimo i movimenti ameboidi dei leucociti sparsi per il preparato.

Rileggendo attentamente le pubblicazioni di Guarnieri ho osservato che soltanto nel primo lavoro del 1892, è detto esplicitamente che i corpuscoli contenuti nell'epitelio corneale di Coniglio sono capaci di cangiar forma; negli altri lavori, quando si riferisce all'epitelio corneale di coniglio, se ben comprendo, non si parla di veri e propri movimenti ameboidi. Infatti nel lavoro del 1894 Guarnieri dice che nei preparati fatti col grattamento dei rilievi papuloidi della cornea dei Conigli inoculati con vaccino « sebbene con difficoltà, è dato osservare cellule epiteliali che ricettano nel loro protoplasma uno o più *Cytoryctes* nelle più svariate movenze ameboidi che mutano colore per la loro cospicua rifrangenza, spostandosi dal foco della lente, restando i nuclei con i granuli nucleari completamente in foco, come anche si possono osservare movimenti sul piano ottico, spostandosi il corpicciuolo da un lato all'altro del nucleo epiteliale ». Come si vede non si parla di veri movimenti ameboidi; io non ho potuto riscontrare nemmeno gli spostamenti dal foco della lente e tanto meno i movimenti da una parte all'altra del nucleo epiteliale.

Veri movimenti ameboidi sono descritti da Guarnieri nei corpuscoli che si trovano nella linfa vaccinica. Ho procurato di ripetere anche queste esperienze, per quanto era possibile, nelle stesse condizioni in cui operò Guarnieri.

Il Prof. Leoni, direttore dell'Istituto vaccinogeno di Roma ebbe la cortesia di darmi, raccolta in tubetti sterilizzati, la linfa proveniente dalle pustole vacciniche delle Vitelle. Con questo materiale ho fatto preparati a goccia pendente che ho osservati sul tavolino riscaldante alla temperatura di 35°-40° C. In questo modo ho visto veramente corpuscoli liberi rifrangenti che compivano movimenti ameboidi (tav. VIII, fig. 17), ma escludo che questi corpuscoli fossero *Cytoryctes* per i seguenti motivi: Anzitutto questi corpuscoli si trovano abbastanza numerosi (se ne vedono facilmente parecchi in un solo preparato) nella linfa limpida che, come è

noto, costituisce un vaccino assai poco attivo. Di più ho fatto colla linfa dei preparati per strisciamento fissati col reattivo di Schaudinn (alcool assoluto 50 parti, soluzione acquosa satura di sublimato 100 parti, acido acetico 5 goccie) e li ho coloriti coll'ematossilina ferrica di Heidenhain o coll'emallume ed eosina. In questi preparati non ho riscontrato corpi riconoscibili per *Cytoryctes*, mentre vi erano molti corpuscoli delle dimensioni dei *Cytoryctes*, ma con evidente nucleo, coi caratteri del nucleo dei leucociti (tav. VIII, fig. 7). Si può anche notare inoltre che la temperatura più favorevole per l'osservazione dei movimenti ameboidi dei corpuscoli vaccinici, è precisamente quella in cui si vedono più attivi i movimenti dei leucociti. Questi fatti tutt'insieme considerati, permettono con ragione di escludere che i corpuscoli con movimenti ameboidi osservati nella linfa siano veri *Cytoryctes*; si può supporre invece che siano piccoli linfociti o frammenti di leucociti.

L'esistenza di movimenti ameboidi nei corpuscoli vaccinici, non è affatto dimostrata.

IV. — Riproduzione

Gli autori che ritengono i *Cytoryctes* esseri viventi, interpretano molte figure come figure di riproduzione. Quasi tutti ammettono una riproduzione per divisione, si parla anche di riproduzione per sporulazione, ma su questa non tutti son d'accordo.

Mi occuperò prima della riproduzione per divisione.

Se non si può accertare che i corpuscoli vaccinici si dividono in due o più parti, è però certo che moltissime figure da essi presentate possono venir interpretate come figure di divisione. Spesso specialmente i più piccoli tra i corpuscoli vaccinici, presentano uno o più strozzamenti, parecchie forme hanno figura di cifra otto, spesso si vedono due corpicciuoli vicinissimi l'uno all' altro e tali da apparire derivati dalla divisione di un unico corpicciuolo. Hückel osserva che esiste una sproporzione tra il numero di figure di divisione e il numero dei supposti parassiti che si trovano in una sezione. Secondo Hückel, le figure di divisione dovrebbero apparire molto più frequenti ; egli riferisce di non averne trovata nessuna in 120 sezioni di una cornea innestata da 15 ore, periodo in cui era da supporsi che le figure di divisione avrebbero dovuto trovarsi abbondantissime, essendo appunto quello in cui il numero dei corpuscoli vaccinici aumenta più rapidamente.

Questa obiezione fu già ribattuta da von Wasielewski il quale osservò che solo la mancanza completa di figure di divisione potrebbe servire di prova contraria alla teoria, perchè il trovarne poche può dipendere o dalla rapidità con cui avviene il processo o dalla difficoltà di sorprendere le forme nel momento opportuno, mentre a dar valore alla teoria basta il fatto di trovare figure che possano essere interpretate come figure di divisione.

Dalle mie ricerche risulta che il numero delle figure di divisione non è così esiguo da non poter spiegare l'aumento dei supposti parassiti. Molte volte, anzi, io ne ho trovate parecchie in una sola sezione di epitelio corneale innestato da due giorni e mezzo o da tre giorni. Quel che colpisce, piuttosto, e che fa dubitare che si tratti veramente della divisione di un essere vivo, è la straordinaria irregolarità e variabilità delle forme e delle dimensioni delle figure stesse. Ho già detto che gli strozzamenti a volte sono verso un estremo, a volte sono parecchi in uno stesso corpo. Debbo ancora notare che questi strozzamenti, per quanto siano più frequenti nelle forme più piccole, si trovano anche in alcune di quelle più grandi provviste di granuli (tav. VIII, fig. 11).

Anche corpi non viventi possono assumere aspetti simili a quelli interpretati come figure di divisione nei corpuscoli vaccinici; infatti osservando le figure di Fischer nel suo studio sul Protoplasma (1), si vede che con miscugli di albumine ha ottenuto figure assai simili a quelle che si vedono nelle cornee vaccinate di Coniglio.

Io mi associo all' opinione di Hückel il quale ritiene che possa avvenire una divisione nei corpuscoli vaccinici, ma che non si tratti di ciò che s'intende ordinariamente per riproduzione.

Oltre alla moltiplicazione per divisione, gli autori tendono ad ammetterne un' altra per sporulazione, ma in questo si mostrano molto più esitanti. Le forme descritte come figure di sporulazione sono evidentemente quelle costituite da una massa omogenea più o meno ricoperta di granuli, forme che si osservano nei preparati coloriti coll' ematossilina ferrica, e meglio ancora in quelli coloriti colla miscela di Biondi.

Le forme a morula di cui parla il Monti, mi pare sieno le

(1) Fischer, *Op. cit.*

forme tondeggianti quasi completamente ricoperte di granuli (1) quelle a margherita sono, a mio avviso, quelle con granuli alla periferia o un pò distaccati dalla massa centrale.

Guarnieri nel suo più recente lavoro descrive minutamente un processo di moltiplicazione per sporogonia conitomica. Trattandosi di una nota preventiva, mancano nel lavoro di Guarnieri figure illustrative, tuttavia credo che le figure descritte da Guarnieri possano venir identificate con alcune delle figure date prima da Hückel, ritrovate poi anche da me nell' epitelio corneale di Coniglio ed ancora più evidentemente in alcune forme che ho trovato frequentissime nella pelle di Pecore infette di *clavelée*. Nei corpuscoli della *clavelée*, si possono sopratutto riconoscere le digitazioni claviformi sporgenti dalla massa interpretata da Guarnieri come protoplasma, digitazioni che danno al corpuscolo un aspetto asteroide (tav. VIII, fig. 15). Guarnieri dice che l'evoluzione di questo processo è molto rapida e si riscontra assai evidentemente e con abbondanza di forme nei prodotti patologici poche ore dopo l'inoculazione. Egli non dice quale materiale abbia adoperato per le sue ricerche, non credo però che sia l'epitelio corneale di Coniglio, perchè, per comune parere di quanti hanno fatto ricerche in proposito, e come risulta anche dalle mie osservazioni, nelle prime ore non si riscontrano nella cornea corpuscoli simili a quelli descritti da Guarnieri. Io ho sezionato l'epitelio corneale di Coniglio 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14. ore dopo l'inoculazione senza riscontrarle. Secondo Guarnieri gli sporozoiti sarebbero rappresentati da un corpicciuolo cromatico di forma tondeggiante, circondato da una zona citoplasmatica. Se, come credo, gli sporozoiti di Guarnieri sono alcuni dei

(1) Il Monti nel Convegno dell' Unione Zoologica Italiana tenutosi in Roma nel 1902, ricorda di aver trovato nel vaiolo umano e nelle cornee di Coniglio innestate con vaiolo, delle forme a rosetta assai regolari, molto piccole che non possono essere spiegate che come forme in via di segmentazione.

Io non ho fatto sul vaiolo umano speciali ricerche, credo tuttavia che molto simili, se non eguali, a quelle di cui parla il Monti, debbano essere alcune forme di *Cytoryctes vaccinae*, più o meno tondeggianti, con granuli alla periferia (tav. VIII, fig. 2). Ora queste figure, secondo me, non sono che modalità della forma generale dei *Cytoryctes*, risultanti da una massa con parecchi granuli.

Altre forme che potrebbero paragonarsi a figure a rosetta, sono alcune da me osservate nella pustola di *clavelée* nella Pecora (tav. VIII, fig. 8*d*). Queste forme, perquanto risulta dall' insieme di tutte le osservazioni e dal confronto cogli altri corpuscoli della *clavelée*, debbono, mi sembra, ritenersi prodotte da frammentazione del nucleo.

granuli che si osservano nei *Cytoryctes*, io non ho riscontrato attorno ad essi la zona di citoplasma.

Per quanto riguarda queste supposte forme di riproduzione, bisogna anzitutto notare che la loro irregolarità e la loro varietà sono immense, sì che se alcune ed anche parecchie considerate separatamente, possono dar l'immagine di un essere vivente in una fase di sporulazione, non è poi possibile, considerandole insieme, di venir a ricostruire il ciclo di sviluppo di un animale, perchè manca quel ritmo che dovrebbe indicare il ripetersi degli stessi stadi in individui della stessa specie.

Un'altra obiezione è che i granuli, come ha già osservato Hückel, sono esterni, cioè non fanno parte della massa che dovrebbe costituire il corpo del supposto parassita. Inoltre i granuli, come ho già notato a proposito della struttura dei *Cytoryctes*, non sono indipendenti gli uni dagli altri ma con molti mezzi di fissazione e di colorazione si vedono riuniti tra loro per mezzo di filamenti i quali vengono a formare una rete che non si limita al supposto parassita, ma molte volte si continua nell'alone chiaro si unisce al protoplasma cellulare e forse è una parte del protoplasma stesso. Di più i granuli sono di dimensioni differentissime, e si possono ottenere anche indipendentemente dall'azione del vaccino.

Von Wasielewski nel suo lavoro del 1901 insiste sopra una distinzione da lui già stabilita fin dal 1897, secondo la quale si potrebbero distinguere i corpuscoli in due gruppi; gli uni con pochi granuli di grandezza presso a poco eguale, che si trovano in piccol numero (7-15) sulla superficie del corpuscolo, distribuiti regolarmente, gli altri con molti granuli distribuiti irregolarmente. I primi apparterrebbero a forme di sporulazione, i secondi dovrebbero considerarsi quali forme di degenerazione. Hückel non trova fondata questa separazione ; anch'io debbo associarmi al parere di Hückel.

Prima di terminare le considerazioni intorno alla supposta riproduzione dei *Cytoryctes*, accenno alle conclusioni di Ishigami, che ho dovuto considerare separatamente perchè sono diverse da quelle degli altri autori.

Ishigami adopera specialmente come mezzo di studio la linfa vaccinica e le pustole di Vitella. Egli crede, in seguito alle proprie osservazioni, di poter definire il parassita del vaccino come un

Protozoo rotondo od ovale di uno splendore verdastro, il quale nei giovani stadi compie movimenti ameboidi. Quando è penetrato nelle cellule epiteliali continua a svilupparsi, lo sviluppo avviene in due modi. Negli stadi giovani si moltiplica per scissione; quando il suo sviluppo ha raggiunto un certo grado si forma una cisti dal cui contenuto si formano numerosi sporozoiti, quindi il parassita appartiene agli Sporozoi. Anche la formazione della cisti avviene in due modi: se le cisti si formano nelle cellule, sono relativamente grandi; se si formano libere nel taglio praticato per l'inoculazione, allora sono relativamente piccole. Le cisti più piccole hanno le dimensioni di 7 μ in larghezza, 7-12 μ in lunghezza, le più grandi hanno la larghezza di 12-20 μ e la lunghezza di 35 μ; il numero degli sporozoiti è diverso secondo la grandezza delle cisti e va, nei limiti estremi, da 8 a 260, ma in media è di 20-40. In seguito Ishigami parla della cultura di questo parassita, ma su tal punto parlerò più avanti.

La diversità delle osservazioni di Ishigami consiste sopratutto nell'osservazione delle cisti che furono descritte, per quanto mi consta, solo da lui e da Siegel. Ishigami dice che la formazione delle cisti era già stata osservata da Guarnieri, ma il Guarnieri invece fa espressamente notare che le forme che interpreta come fasi di sporulazione, non sono mai provviste di membrana propria.

In ogni modo ho cercato di ripetere anche le osservazioni di Ishigami, osservando la linfa e le pustole vacciniche di Vitella coi mezzi da lui indicati. Nella linfa vaccinica osservata in preparati fatti a goccia pendente, non mi è stato possibile riscontrare nè cisti nè altre forme che potessero avere l'apparenza di cisti. Ho fatto anche qualche preparato di linfa col mezzo usato da Ishigami. Ho disteso, cioè, la linfa glicerinata sopra un coprioggetto, che ho lasciato galleggiare sulla glicerina calda per 20 minuti; finchè erano coagulati gli albuminoidi in essa contenuti, l'ho tuffata poi nella glicerina bollente e lavata in acqua. Ho poi coloriti questi vetrini con vari metodi, ma nessuno mi ha dato resultati.

Per l'esame delle pustole vacciniche di Vitella, mi sono rivolta al professor Leoni, già ricordato, il quale ha avuto la cortesia di innestare appositamente una Vitella e di tagliarne le pustole ad ogni nostra richiesta. Così ho potuto esaminare la cute vaccinata della Vitella 3, 5, 7, giorni dopo l'innesto. Questo materiale fu

fissato e colorito cogli stessi mezzi usati per lo studio della cornea di Coniglio. Come per la cornea di Coniglio anche qui i resultati ottenuti coi vari metodi concordano perfettamente tra di loro. In complesso ho trovato nella cute gli stessi corpicciuoli che si vedevano nell'epitelio corneale di Coniglio. Nei preparati di cute di tre giorni non ho riscontrato che corpuscoli tondeggianti in vicinananza dei nuclei degli strati epiteliali dell'epidermide. Dopo cinque giorni si vedevano gli stessi corpicciuoli più numerosi, se ne vedevano anche nelle cellule delle ghiandole sebacee.

Nei preparati di pustole asportate 7 giorni dopo l'innesto si vedevano nelle cellule delle ghiandole sebacee ed in quelle epiteliali tutte le varie sorta di corpuscoli vaccinici, vale a dire, corpuscoli tondeggianti omogenei, corpuscoli più grandi a contorni irregolari, corpuscoli con granuli di varie forme, ecc. Non ho potuto osservare forme che potessero essere interpretate come cisti, quindi relativamente al lavoro di Ishigami posso dire solo che non sono riuscita a vedere le forme da lui descritte.

La forme che, secondo alcuni autori, dimostrerebbero la riproduzione dei corpuscoli vaccinici, non sono tali da permettere di ricostruire il ciclo di sviluppo di un essere vivente.

V. — Filtrazione e culture.

A proposito della filtrazione, debbo subito riferire l'esito negativo di tutti i tentativi da me fatti per filtrare sia la linfa vaccinica che il virus corneale.

Ho voluto tentare la prova ancora una volta, nonostante i resultati negativi ottenuti costantemente da tutti gli autori perchè, il Borrel è riuscito in determinate condizioni a filtrare il virus della *clavelée*. Ora è noto specialmente per gli studi del Bosc, che nella pelle degli animali infetti di *clavelée*, si osservano nelle cellule epiteliali e in quelle delle ghiandole sebacee, corpuscoli molto simili ai corpuscoli vaccinici.

Il Borrel studiando il virus della *clavelée* dal punto di vista della filtrazione, diluiva il raschiamento superficiale di una pustola in una grande quantità d'acqua. Nel caso di una filtrazione rapida estemporanea, sotto pressione di una pera di caoutchouc il virus della *clavelée* passò qualche volta alla bugia Berkefeld, mai attraverso la candela F di Chamberland, quasi sempre attraverso le candele

F4, F5, ecc. fino alla candela F10. Invece se la filtrazione avveniva in modo continuo da uno a sette giorni, anche attraverso la candela F, il quarto e il quinto giorno, il liquido filtrato diventava virulento. Il liquido virulento restava sterile nelle colture di brodo a 37° C. La virulenza si manteneva per lungo tempo.

A proposito delle esperienze di Borrel si potrebbe osservare che, secondo è stato dimostrato da vari autori, non sempre i resultati sulla filtrazione hanno un valore assoluto, sia perchè i filtri non son sempre eguali, sia perchè è possibile che esistano nei filtri canali facilmente attraversabili, sia infine perchè alcuni Batteri possono moltiplicarsi nei fori del filtro stesso. Ma, circa a quest' ultima obiezione, manca qualsiasi prova che i parassiti della *clavelée* si moltiplichino nell' ambiente esterno, e quanto ai possibili errori, il nome dell'autore è garanzia dell'esattezza dei resultati.

Basandomi sulle indicazioni di Borrel ho tenuto per parecchi giorni nell'acqua distillata le cornee di Coniglio innestate con vaccino ed ho provato a filtrare il liquido torbido in cui le cornee erano sempre immerse. Perchè la filtrazione potesse durare lungo tempo ho diminuito sempre la pressione. In tutti i miei tentativi non sono mai riuscita ad avere un filtrato attivo, per quanto abbia ripetuto più volte le esperienze.

Ricordo però che è stata dimostrata la possibilità di ottenere dalla linfa vaccinica di Vitella un liquido attivo per mezzo della dialisi. Le esperienze furono fatte da Schultz e Weyl (1) nell'Istituto d'Igiene dell'Università di Berlino. Essi ottennero un liquido attivo dopo una dializzazione di due ore, inattivo dopo una dializzazione durata 20 minuti. Gli stessi autori ottennero resultati negativi nei tentativi di filtrazione.

***

Mentre cercavo di ripetere le esperienze sulla filtrazione ho potuto accorgermi che anche il virus vaccinico corneale può sopportare una forte diluizione nell'acqua distillata. Non ho fatto in proposito speciali ricerche bibliografiche nè speciali esperienze, ma parecchie volte ho innestato Conigli immergendo la lancetta nell'acqua torbida in cui erano state immerse le cornee ed ho ottenuto resultato positivo. Io mettevo di solito una o due cornee

(1) *Zeitschrift für Hygiene*, X, 1879.

infette in un piccolo recipiente contenente circa 20 cm³ d'acqua distillata. Certamente questa quantità è assai piccola, ma bisogna considerare che i frammenti di epitelio infetti che si hanno in una cornea sono un materiale assai scarso, se lo si paragona a quello che si ottiene dalla raschiatura di una pustola di Vitella. Ricordo questi fatti perchè possono far pensare che le supposte culture dei parassiti del vaiolo e del vaccino non siano che diluzioni del primo materiale adoperato.

Per quel che riguarda il parassita del vaccino, si può dire che soltanto l'Ishigami ritiene di averlo coltivato. Il Bosc riferisce parecchi tentativi di cultura da lui fatti, e crede di aver ottenuto una riproduzione dei corpuscoli vaccinici nel sangue di Coniglio reso incoagulabile coll' estratto di testa di Sanguisuga, ma dichiara di non aver mai potuto superare il 4° o 5° passaggio e quindi di non poter assicurare che si tratti di una vera cultura. Calmette e Guerin con altri mezzi non ottennero resultati migliori.

Ishigami ha adoperato come mezzo di cultura per i parassiti del vaccino la linfa priva di Batteri. Per ottenere questa linfa prendeva della linfa vaccinica, la stritolava, la diluiva in acqua distillata, filtrava con ovatta, e dopo aver riscaldato a 37° C. la iniettava nella vena dell'orecchio di una Vitella. Dopo 7 o 14 giorni la Vitella presentava in parecchi punti delle pustole. Il contenuto di queste pustole, venute a suppurazione, non conteneva germi e questo era il mezzo di cultura. Ishigami ottenne i seguenti resultati : in 14 Vitelli innestati colla prima generazione di parassiti ottenne sempre resultato positivo, in 9 Vitelli innestati colla seconda generazione ebbe 7 resultati positivi, in 11 Vitelli innestati colla terza generazione ebbe 5 resultati positivi. Dopo di questo tempo innestò ancora 33 Vitelli, di cui 23 con resultato positivo. Dopo la quarta generazione non ottenne più resultato positivo. Vedendo che l' attività andava sempre diminuendo egli stesso ha osservato che poteva sorgere il dubbio che si trattasse di una diluzione, piuttosto che di una vera coltura. A togliere questo dubbio fece altre due serie di ricerche di controllo cercando di coltivare il parassita in altri mezzi.

Per le colture col mezzo specifico da lui trovato operava nel seguente modo : nel mezzo di coltura specifico da lui trovato metteva una certa quantità di linfa vaccinica (il rapporto tra la

linfa e il mezzo era 1 : 1.000) e teneva questo miscuglio in termostato per 5-7 giorni (1ª generazione). Poi iniettava ancora nel mezzo di cultura un pò di questa prima generazione (nella proporzione 1 : 1.000) e teneva ancora di nuovo 5-7 giorni in termostato (2ª generazione). Lo stesso faceva per la 3ª e 4ª generazione. Per le ricerche di controllo adoperò come mezzo di cultura il brodo, oppure lo stesso mezzo specifico usato per la prima serie di ricerche, ma invece di tenere i miscugli nel termostato, li usò direttamente per le iniezioni. Col primo mezzo ottenne risultato buono alla prima generazione, buono alla seconda, abbastanza buono alla terza. Cogli altri due ottenne resultati negativi fin dalla prima generazione. Per questo, e sopratutto per i resultati negativi ottenuti nella terza serie di ricerche, cioè in quelle in cui usò il mezzo specifico di cultura senza mettere i miscugli in termostato, crede di poter conchiudere che si tratti di vere colture.

A me sembra che questo modo di procedere non permetta di dedurre queste conclusioni. Anzitutto, pur ammettendo che l'autore abbia ottenuto una vera cultura del parassita del vaccino, non si sa ancora quale sia questo parassita, perchè egli è partito dalla linfa vaccinica e non ha mai isolato nessuna forma. Inoltre l'argomento portato per escludere che si tratti di una diluzione può dimostrare soltanto che occorre un certo tempo prima che i parassiti del vaccino si diffondano nel mezzo liquido. Che questo sia, è provato anche dal fatto che l'acqua distillata in cui si immergono le cornee vaccinate di Coniglio è inattiva nei primi due giorni e dopo comincia a diventare virulenta.

La possibilità che si tratti invece di una diluzione è resa più probabile da un confronto tra i resultati ottenuti da Ishigami, col vaccino e quelli ottenuti da Borrel con la *clavelée*.

Supponendo che quella avuta da Ishigami sia una diluzione della linfa vaccinica primitiva, alla seconda generazione in cui si hanno ancora resultati buoni la diluzione sarebbe di 1 : 1.000.000, ed alla terza (l'ultima che dia un resultato) si 1 : 1.000.000.000. Il Borrel dice « les couches épidermiques d'une seule pustule peuvent être dissociées dans 100 cm³ d'eau ; la suspension louche ainsi obtenue peut être étendue au millième et, dans certaines expériences au dix-millième elle est encore virulente. »

Supponendo che gli strati epidermici di una sola pustola occu-

pino un volume di 1 cm^3 si avrebbe già una diluizione di 1:1000000 come nella seconda generazione della supposta coltura ottenuta da Ishigami, ma gli strati epidermici di una sola pustola probabilmente hanno un volume minore di 1 cm^3 e quindi la diluzione è ancora maggiore. Infine non sono escluse nel lavoro di Ishigami, fonti di errore, perchè non è certo che il liquido adoperato come mezzo di cultura, fosse assolutamente privo di germi. Sarebbe interessante poter consultare il lavoro in esteso.

Altri autori ritengono di aver coltivato il parassita del vaiolo. Roger e Weil dicono di aver coltivato il parassita del vaiolo per 18 generazioni nel sangue di Coniglio reso incoagulabile col l'estratto di testa di Sanguisuga.

Sanfelice e Malato ritengono di averlo coltivato nei soliti terreni di cultura dei batteri.

Ma le forme coltivate dagli uni e dagli altri sono essenzialmente diverse. I corpuscoli del vaiolo coltivati da Roger e Weil sarebbero corpuscoli arrotondati od ovalari, misuranti in media 1,75 μ nei quali si distinguerebbe nettamente un nucleo ed un protoplasma. Secondo gli A. apparterrebbero agli Sporozoi.

Sanfelice e Malato descrivono il parassita del vaiolo come un Batterio indistinguibile per le proprietà morfologiche dallo Stafilococco piogene aureo.

Mi sembra che queste contradizioni dimostrino come tutte queste ricerche abbiano bisogno di accurate verifiche.

La filtrazione del vaccino non è mai riuscita, ma l'importanza di questo argomento per la dimostrazione della natura parassitaria dei corpuscoli vaccinici, è assai scemata per il fatto che può passare attraverso il filtro il virus della clavelée. Non può accertarsi che finora il parassita del vaccino sia stato coltivato.

PARTE II

MODIFICAZIONI SUBITE DAI CYTORYCTES IN VARI AMBIENTI IN CUI IL VACCINO SI CONSERVA ATTIVO.

Mentre sottoponevo il virus corneale a vari trattamenti per confrontare le sue proprietà con quelle del vaccino tratto dalle pustole di Vitella, ho studiato il modo di comportarsi dei *Cytoryctes*

in questi vari ambienti. Prima di ciò avevo esaminato in vari modi la linfa vaccinica; in seguito ho sottoposto il virus corneale all'azione di varie soluzioni di cloruro di sodio.

Lo scopo di queste osservazioni era il seguente: poichè l'esame dei *Cytoryctes* non dava modo di determinare con certezza la loro natura, il ritrovare i corpuscoli vaccinici nei vari ambienti in cui il vaccino si conserva attivo, o non alterati o in forme durature, sarebbe stato un buon criterio per ritenerli parassiti, mentre il non trovarli affatto o il trovarli assai alterati sarebbe stata una prova contraria (1).

I. — Presenza dei Cytoryctes nella linfa vaccinica

Colla linfa vaccinica glicerinata ho fatto molti preparati per strisciamento, che poi ho colorito col metodo di Romanowski, nello stesso modo con cui si fa la colorazione del sangue malarico. In questo modo non ho avuto buoni resultati.

Più tardi ho veduto che la linfa vaccinica cadendo nella soluzione satura acquosa di sublimato con cloruro di sodio, si coagulava, e restava abbastanza compatta per poter essere inclusa in paraffina coi mezzi soliti, usando solo la cautela di non scuotere i recipienti per non ridurre il coagulo in frantumi.

Con questo sistema ho potuto avere sezioni sottilissime di linfa vaccinica, sezioni che ho colorite coll'emallume o coll'ematossilina ferrica. In questi preparati, in mezzo a una quantità di materiale eterogeneo in cui era ben difficile stabilire se vi fossero o no *Cytoryctes*, si vedevano però sempre, nettamente riconoscibili, dei lembetti di tessuto epiteliale. In questi, vicino ai nuclei delle cellule si vedevano corpuscoli tondeggianti, che coll'ematossilina ferrica si colorivano intensamente in nero, coll'emallume si colorivano poco intensamente; presentavano insomma l'aspetto di *Cytoryctes*.

Le cellule epiteliali con relativi *Cytoryctes*, mancavano in tutti i preparati fatti nello stesso modo, con vaccino che il Prof. Leoni mi aveva dichiarato inattivo e che da me fu confermato tale coll'inoculazione nell'epitelio corneale di Coniglio.

(1) Il Monti, al Convegno dell'Unione Zoologica italiana, obbiettò che le forme durevoli dei *Cytoryctes* potrebbero essere rare e non dimostrabili cogli attuali metodi di ricerca. Tutto è possibile! Ma questo caso non suole verificarsi nei Protozoi.

La presenza di Cytoryctes nella linfa attiva; la loro assenza nella linfa inattiva, sembrano indicare un rapporto tra i Cytoryctes ed i parassiti del vaccino.

II. — Azione della glicerina sui Cytoryctes.

Per studiare l'azione della glicerina sui *Cytoryctes*, non potendo ricorrere alle sezioni perchè la permanenza in glicerina indurisce le cornee enormemente, ho adoperato il metodo seguente. Dall' epitelio corneale di Coniglio, ho raschiato frammenti infetti di epitelio, e con questi ho fatto preparati in glicerina pura, o in glicerina diluita con acqua distillata (50 parti di glicerina e 50 di acqua). I preparati furono chiusi con paraffina e con mastice. Li ho esaminati appena fatti, e li ho riveduti parecchie volte ad intervalli di parecchi mesi. Parlando della struttura dei *Cytoryctes*, ho già detto che a fresco, in glicerina pura o diluita in acqua, si distinguono forme omogenee e forme più o meno ricoperte di granuli rifrangenti. Nei preparati in glicerina, esaminati dopo 7 giorni, le cellule epiteliali apparivano separate l'una dall' altra, i nuclei apparivano più o meno alterati, ma i *Cytoryctes* non mostravano nessuna modificazione.

Dopo 3 mesi, e dopo 4 mesi, le cellule epiteliali erano alterate moltissimo, ma i *Cytoryctes* erano ancora benissimo conservati, tanto le forme omogenee che quelle più o meno ricoperte di granuli. *La glicerina conserva l'attività del vaccino e non altera i Cytoryctes.*

III. — Azione del disseccamento.

Per studiare il modo di comportarsi dei *Cytoryctes* sottoposti al disseccamento ho incominciato coll' esaminare microscopicamente la pustola di Vitella disseccata, ma non ho potuto avere resultati soddisfacenti per le difficoltà incontrate nel sezionare il materiale che diveniva durissimo e nel riconoscere in esso i corpuscoli vaccinici.

Ho poi esaminato il virus corneale disseccato.

Le cornee vaccinate, asportate due giorni e mezzo o tre giorni dopo l'innesto vennero disseccate nel modo già indicato, poi fissate con soluzione acquosa satura di sublimato con cloruro di sodio al 0,50 °/o. Le sezioni furono colorite con emallume o con ematossilina ferrica. In questo modo furono osservate 3 cornee

prese da 3 Conigli diversi ; i resultati ottenuti furono sempre gli stessi. Nelle sezioni tutto l'epitelio appariva raggrinzato, le cellule epiteliali erano molto più piccole delle cellule normali, i nuclei pure erano assai più piccoli. Qualche volta accanto ai nuclei nelle vicinanze del taglio, si vedevano puntini minutissimi, intensamente coloriti anche coll' emallume, puntini che secondo ogni probabilità rappresentavano i *Cytoryctes* enormemente rimpiccoliti e alterati. Attorno a questi puntini non si osservava nessuna capsula che potesse far pensare ad una cisti.

Per non opporsi all' ipotesi parassitaria di Guarnieri bisognava supporre che i *Cytoryctes* potessero sopportare alterazioni profondissime senza morire. La cosa non era impossibile, ma in tal caso, tali esseri rimessi in un ambiente favorevole, molto verosimilmente avrebbero dovuto riacquistare i caratteri primitivi. Per verificare se questo avvenisse, dopo aver disseccato le cornee col mezzo indicato, le ho messe nell' acqua distillata.

La prima volta ve le ho tenute 24 ore. Con queste due prime cornee non ho innestato nessun Coniglio, ma le ho usufruite soltanto per l' esame dei *Cytoryctes*.

Dopo esser state 24 ore in acqua, le cornee erano rigonfiate e macroscopicamente presentavano l'aspetto delle cornee vaccinate normali. Una di queste cornee fu passata direttamente negli alcool, l'altra fu fissata prima colla soluzione acquosa satura di sublimato; le sezioni in tutti e due i casi furono colorite coll' emallume o coll'ematossilina ferrica. Nella cornea passata direttamente in alcool, l' epitelio si presentava assai alterato. I nuclei apparivano impiccoliti coi contorni irregolari. In nessun preparato ho potuto riscontrare i *Cytoryctes*, nè corpi che potessero indicare restì di *Cytoryctes*. Non vi è dubbio che prima del disseccamento i *Cytoryctes* esistessero, perchè anche all' esame macroscopico, dopo un pò di pratica si può riconoscere con sicurezza quando il vaccino ha attecchito e quando no; inoltre nelle sezioni l' epitelio mancava nelle regioni vicine al taglio, in corrispondenza al taglio si notava nel connettivo la presenza di molti leucociti, insomma si vedevano tutte le alterazioni che si presentano di solito nelle cornee in cui è avvenuta l'infezione vaccinica, mancavano solo i *Cytoryctes*.

Molto simili erano i preparati ottenuti coll' altra cornea fissata col sublimato. Però in quest' ultima in alcune sezioni, accanto ad

alcuni nuclei di cellule epiteliali situate vicino ad un taglio, si vedevano minutissimi corpicciuoli intensamente coloriti. Questi punti per la loro posizione potevano interpretarsi come *Cytoryctes*, enormemente impiccoliti (tav. VII, fig. 3).

Nel dubbio che queste cornee fossero rimaste nell' acqua un tempo insufficiente a far riacquistare ai *Cytoryctes* il loro aspetto primitivo, ho ripetuto gli esperimenti lasciando in acqua le cornee disseccate, un tempo più lungo di 24 ore. Ho disseccato nel modo solito due cornee vaccinate e le ho lasciate nell' acqua distillata due giorni e mezzo; da una ho tolto un frammento di epitelio col quale ho innestato un Coniglio, poi le ho fissate tutte e due nella soluzione satura di sublimato. Nelle sezioni tanto dell' una che dell' altra non mi è stato possibile riscontrare la presenza di *Cytoryctes*, ma mancavano estesi tratti di epitelio che si erano distaccati durante la permanenza nell' acqua distillata, quindi la prova non poteva dirsi concludente.

Ho ripetuto l'esperimento mettendo in acqua distillata altre due cornee vaccinate e disseccate. Dopo due giorni i frammenti di epitelio e speciamente quelli più vicini al taglio che erano sollevati e tendevano a distaccarsi, sono stati raccolti accuratamente con una pipetta e fissati in soluzione satura acquosa di sublimato, separatamente dal connettivo. Con questi frammenti ho potuto avere delle sezioni sottilissime; le ho colorite coll' emallume. In questi preparati le cellule epiteliali si presentavano in due modi diversi. In alcune i nuclei erano tondeggianti col reticolo cromatico molto ben distinto, in altre tutta la cromatina dei nuclei appariva riunita in una massa compatta a contorni irregolari. Accanto ad alcuni di questi nuclei più compatti, nella posizione in cui di solito stanno i *Cytoryctes*, si vedevano grandi spazi chiari.

A volte dentro questi spazi, si distinguevano tre o quattro filamenti sottilissimi disposti a guisa di raggi attorno a un punto centrale. Altre volte, in queste cellule col nucleo più alterato si notavano corpicciuoli piccolissimi circondati da un alone chiaro. Forse questi corpicciuoli rappresentavano i *Cytoryctes*, ma, per giudicare quanto fossero alterati basti dire che si distinguevano appena nelle sezioni sottilissime, esaminate a fortissimo ingrandimento (tav. VII, fig. 4).

Ho tentato anche l'esame a fresco in glicerina diluita, di epitelio

vaccinato diseccato, stato 24 ore in acqua distillata Neanche con questo mezzo ho potuto constatare la presenza di *Cytoryctes*, solo ho visto in alcune cellule piccoli granuli assai splendenti.

Il disseccamento non distrugge l'attività del vaccino, pure rende i Cytoryctes irriconoscibili.

IV. — Azione dell' acqua distillata

Lo studio del modo di comportarsi dei *Cytoryctes* nell' acqua distillata è quello che ha presentato maggiori difficoltà, perchè nell' acqua l'epitelio corneale si disgrega, e perchè non ritrovando i *Cytoryctes* nelle cellule epiteliali, non si può dire se sono andati distrutti o se sono rimasti liberi nell' acqua.

Le mie prime osservazioni mi avevano indotto appunto ad accettare quest'ultima ipotesi, che permetteva di spiegare la virulenza delle soluzioni diluitissime di linfa vaccinica, ma in seguito ad osservazioni più accurate ho dovuto riconoscere che essa non era esatta.

Riferisco tutti i resultati ottenuti, anche quelli che ho dovuto riconoscere erronei. Parlerò prima degli esami a fresco, e poi di quelli fatti col mezzo delle sezioni, ma i due metodi spesse volte furono usati contemporaneamente. Le ultime ricerche a fresco, furono ripetute per controllo dopo l'esame delle sezioni.

In generale, mettendo nell'acqua distillata le cornee vaccinate, asportate tre giorni dopo l'innesto, nei primi due giorni l'acqua rimane limpida, verso il terzo giorno diventa torbida ; dalle cornee in vicinanza dei tagli si sollevano frammenti di epitelio, che si distaccano ad ogni piccola scossa. Esaminando il liquido vi si vedono sparse cellule epiteliali.

Una prima volta in cui ho esaminato a fresco in glicerina diluita con acqua, dei frammenti di epitelio raschiati da una cornea restata in acqua due giorni e qualche ora, non vi ho riscontrato *Cytoryctes,* ma ho attibuito il resultato negativo, alla possibilità di non aver raschiato ed esaminato proprio i pezzetti di epitelio infetti, ed ho supposto che i pezzetti contenenti i *Cytoryctes*, si fossero distaccati e disgregati nell'acqua.

Ho ripetuto un'altra volta l'esperimento, mettendo altre cornee in acqua distillata, e lasciandovele per tre giorni. Siccome, o per la bassa temperatura (era inverno) o per altre circostanze che non

so determinare, l'epitelio non si era distaccato ancora, per fare i preparati, invece di raschiare, ho appoggiato una pipetta sulla cornea nei punti che dovevano contenere i corpuscoli vaccinici. Colla leggerissima aspirazione esercitata colla pipetta, si distaccavano dischi di epitelio. Ho esaminato questi frammenti in acqua distillata ed ho creduto di riconoscervi i *Cytoryctes*, ben conservati, alcuni situati come al solito accanto ai nuclei, altri un pò allontanati. Per seguire ulteriormente il destino di questi corpuscoli in acqua distillata, ho messo il preparato in camera umida. L'ho rivisto dopo due giorni, e l'ho trovato enormemente alterato; i nuclei si distinguevano malamente, i *Cytoryctes* non si distinguevano più. Vicino ad alcuni nuclei si vedevano grandi corpi tondeggianti, poco rifrangenti, che ho pensato fossero *Cytoryctes* enormemente rigonfiati ed irriconoscibili.

Ho rifatto gli esperimenti, asportando le cornee vaccinate di un Coniglio due giorni dopo l'innesto, e lasciandole in acqua distillata soltanto 29 ore, per evitare si distaccasse l'epitelio. Ho poi osservati i frammenti raschiati da queste cornee in acqua e glicerina. Mi è parso che vi fosse qualche raro *Cytoryctes*.

Coll' epitelio delle cornee state 29 ore in acqua distillata, e con quelli rimastevi due giorni ho fatto anche qualche preparato stabile in acqua e glicerina chiuso con paraffina e mastice.

Ho ripetuto ancora gli esperimenti esaminando altre due cornee vaccinate lasciate in acqua due giorni. L'epitelio si distaccava con grandissima facilità : alcuni frammenti galleggiavano per il liquido che era diventato torbido. Raccolti con una pipetta questi frammenti ed esaminati in acqua e glicerina, in qualche cellula si vedevano corpi che potevano sembrare *Cytoryctes*, ma non ho mai trovato tutto un pezzo di epitelio infetto. Nel liquido torbido esaminato al microscopio, si distinguevano cellule epiteliali e alcuni corpusculi splendenti tondeggianti.

Da queste ricerche fatte a fresco sembrava di poter conchiudere che i *Cytoryctes* si conservassero nell' acqua distillata, ma di queste conclusioni non ero affatto sicura perchè contemporaneamente agli esami a fresco avevo fissate e colorite altre cornee vaccinate lasciate in acqua un tempo più o meno lungo, come dirò più avanti e in queste non avevo mai trovato *Cytoryctes*. Si vedevano invece nelle cellule, accanto ai nuclei, dei vacuoli di dimensioni diverse, e mi

nacque il dubbio, di aver interpretato qualche volta per *Cytoryctes* alcuni di questi vacuoli. Dopo circa tre mesi da che erano stati fatti, ho perciò riveduto i preparati chiusi in acqua e glicerina, fatti colle raschiature di epitelio corneale vaccinato, stato in acqua 29 e 48 ore. Non vi ho più riconosciuto i *Cytoryctes*; sparsi per il preparato vi erano una quantità di granuli splendenti. È noto che i *Cytoryctes* si conservano invece in acqua e glicerina per molti mesi. Questo mi fece pensare che i resultati ottenuti nel secondo caso dovessero essere eccezionali, tanto è vero che l'epitelio non si era distaccato; la causa del modo diverso di procedere poteva essere la temperatura. ma poteva anche darsi che per qualche circostanza fortuita, l'acqua non fosse stata pura ed avesse impedito il disfacimento dei *Cytoryctes*.

Per toglier questi dubbi ho ripetuto ancora gli esperimenti nel seguente modo. Ho innestato tutte e quattro le cornee di due Conigli e le ho asportate tre giorni dopo l'innesto. Ho presa una cornea dell' uno e una dell' altro Coniglio e le ho messe nell' acqua distillata in una vaschetta che ho lasciato alla temperatura ambiente (di giorno era di 12°-14° C.). Le altre due cornee le ho messe in acqua distillata in una vaschetta eguale alla precedente e le ho tenute in termostato alla temperatura di 30° C. per vedere se la differenza dei resultati ottenuti nelle esperienze precedenti potesse attribuirsi alla diversità di temperatura. Dopo 48 ore ho fatto con queste cornee preparati a fresco in acqua e glicerina. Le cornee rimaste alla temperatura ambiente, avevano l'epitelio disgregato in modo che sollevando la cornea con un ago i frammenti di epitelio cadevano. Raccolti questi frammenti ed esaminati con gran cura, raschiati anche i pochi pezzetti rimasti attaccati al connettivo ho fatto moltissimi preparati, ma in nessuno ho potuto riconoscere i *Cytoryctes*.

Le cornee state in termostato, contrariamente a quanto mi sarei aspettata, avevano l'epitelio meno disgregato. Esaminati i frammenti tolti nel luogo del taglio, si distinguevano nettamente le cellule epiteliali coi nuclei relativi, ma non ho riscontrato traccia dei *Cytoryctes*. Un' enorme quantità di Batteri invadeva tutte quante le cellule.

Anche col mezzo delle sezioni in principio non ho ottenuto nessun resultato concludente. Le prime volte ho provato a sezionare

cornee di Coniglio vaccinate rimaste in acqua distillata per 24 ore; nel passare le cornee dall'acqua alla soluzione acquosa di sublimato, i frammenti di epitelio situati nelle vicinanze dei tagli, i quali erano restati sospesi, finivano per distaccarsi. Nelle sezioni, si vedevano soltanto pochi tratti di epitelio nei punti più distanti dai tagli e non potevano quindi servire per la ricerca dei *Cytoryctes*.

Ho cercato di ripetere l'esperimento usando maggiori cautele, sopratutto nel passaggio dall' acqua distillata al fissativo, per evitare il distaccarsi dell' epitelio. Per questo, dopo aver lasciato 24 ore in acqua distillata una cornea vaccinata, senza scuotere il recipiente, con una pipetta ho tolta in parte l'acqua e vi ho sostituito la soluzione acquosa satura di sublimato, poi ho tolta questa soluzione nella quale era rimasta una parte di acqua distillata, ed ho aggiunto una nuova soluzione satura di sublimato. Le sezioni furono colorite con emallume. In queste sezioni (Tav. VII, fig. 6) si vedeva ancora quasi tutto l'epitelio, conservato anche vicino ai tagli. L'epitelio si mostrava assai alterato; le cellule più vicine ai tagli presentavano parecchi vacuoli, molti dei quali erano nella posizione ordinariamente occupata dai *Cytoryctes*, in una nicchia vicina al nucleo. Quei vacuoli potevano rappresentare gli spazi lasciati vuoti dai *Cytoryctes*, diventati liberi nell' acqua, o potevano anche essere interpretati non come veri vacuoli, ma come *Cytoryctes* enormemente alterati ed incapaci di assumere le sostanze coloranti. In ogni modo questi resultati, che differivano dai primi resultati ottenuti cogli esami a fresco, mi indussero a modificare il modo di esperimento.

Per comprendere quali fossero le alterazioni prodotte sui *Cytoryctes* dall' acqua distillata, ho esaminato cornee di Coniglio lasciate in acqua per un tempo molto limitato, e cioè 1 ora, 1 ora e 1/2, 6 ore. Queste cornee, al solito, furono fissate con la soluzione acquosa satura di sublimato con 0,50 °/₀ di cloruro di sodio, poi incluse in paraffina e colorite coll' ematossilina ferrica. Nei preparati di cornee rimaste un' ora in acqua distillata, il protoplasma delle cellule epiteliali presenta già molti vacuoli, ma nei *Cytoryctes* non si riconosce con certezza un' alterazione (tav. VII, fig. 7). Nei preparati di cornea stati in acqua un' ora e mezza si vede l'epitelio notevolmente alterato. I nuclei delle cellule epiteliali conservano la loro forma, ma si colorano un po' diversamente

dal solito, il protoplasma presenta numerosissimi vacuoli. In questo protoplasma si distinguono ancora *Cytoryctes*, ma alquanto alterati per quanto sia difficile precisare in che consista quest' alterazione (tav. VII, fig. 5) e (tav. VIII, fig. 3). Verso le sostanze coloranti i *Cytoryctes* si comportano in modo diverso dal solito, perchè nei preparati coloriti con ematossilina ferrica e eosina alcuni invece che in nero, appaiono coloriti in rossastro.

Nei preparati di cornee state 6 ore in acqua distillata, coloriti con ematossilina ferrica di Heidenhain, i nuclei delle cellule epiteliali si vedono assai rigonfiati. Nella gran maggioranza delle cellule epiteliali non si riscontrano più corpi che possano interpretarsi come *Cytoryctes*, solo in alcune cellule situate nelle vicinanze del taglio o nel taglio stesso, accanto al nucleo, con granda difficoltà e solo a forte ingrandimento, si vedono altri corpi, circa della stessa grandezza dei nuclei a struttura alveolare, con granuli nei punti d'incontro delle maglie (tav. VIII, fig. 4). Questi corpi per la loro posizione nella cellula e per trovarsi solo nella cellule vicine ai tagli debbono ritenersi i resti dei *Cytoryctes*, per-quanto ai *Cytoryctes* normali non somiglino affatto. È importante notare che i contorni di questi corpi che potrebbero chiamarsi *ombre* dei *Cytoryctes*, non sono sempre definibili, ma che la rete da cui risultano costituiti, se non dovunque, almeno da una parte si perde verso il protoplasma cellulare, senza che sia possibile determinare dove finisca il corpo.

Credo dunque di poter conchiudere, che nell'acqua distillata i *Cytoryctes* si alterano enormemente.

L'acqua non distrugge le proprietà del vaccino e altera enormemente i corpuscoli vaccinici.

V. — Azione delle soluzioni di cloruro di sodio sul vaccino e sui corpuscoli vaccinici.

L'idea di trattare l'epitelio corneale di Coniglio con le soluzioni di cloruro di sodio, fu suggerita dal sospetto che a costituire i *Cytoryctes* potesse contribuire l'eleidina. Il Ranvier (1) ha trovato che lasciando per circa 10 ore un pezzetto di pelle nella soluzione di cloruro di sodio al 10 °/o, fissandolo poi con alcool e colorendolo

(1) Histologie de la peau. *Archives d'Anatomie Microscopique*, III, 1900.

col picrocarminio, nelle sezioni non si rinvengono più granuli di eleidina, e invece dei granuli si vede una tinta uniforme. Dunque sotto l'influenza della soluzione di sale l'eleidina granulosa è diventata l'eleidina diffusa, si presenta cioè nello stesso modo in cui si presenta normalmente nelle cellule dello strato rilevato da Ranvier, e da lui chiamato strato intermedio, situato tra lo strato granuloso e lo strato lucido.

Nelle mie prime esperienze ho seguito il metodo usato da Ranvier per la pelle. Ho posto due cornee vaccinate asportate 3 giorni dopo l'innesto, in soluzione acquosa di cloruro di sodio al 10 °/₀ e ve le ho lasciate circa 14 ore, poi una l'ho fissata con alcool assoluto, dall'altra ho raschiato l'epitelio e con questo ho innestato un Coniglio.

Nelle sezioni ottenute colla prima cornea non ho più riscontrato i *Cytoryctes*, mentre nel Coniglio innestato colla seconda si è sviluppata l'infezione normale.

In seguito a questo primo resultato ho cercato di determinare con maggior esattezza l'azione delle soluzioni di cloruro di sodio sui *Cytoryctes*, e di studiare se alle variazioni subite dai *Cytoryctes* corrispondessero modificazioni nell'attività del virus corneale.

Avverto subito che nei *Cytoryctes* non entra l'eleidina, il che si dimostra facilmente innestando il vaccino sulla cute di un Coniglio e sezionando le pustole. Io ho innestato un Coniglio sul muso in corrispondenza alle labbra; quando cominciavano a formarsi le pustole, cioè 4 giorni dopo l'innesto, ho fissato la pelle con soluzione concentrata acquosa satura di sublimato e cloruro di sodio, ho colorito le sezioni in parte coll'emallume e in parte colla miscela di Biondi. Nei preparati coloriti coll'emallume, l'eleidina contenuta nello strato granuloso dell'epidermide appare costituita di minutissimi granuli, coloriti intensamente in violetto non meno intensamente dei nuclei delle cellule, mentre nella stessa sezione, nelle cellule dello strato mucoso, si vedono accanto ai nuclei, corpuscoli più o meno tondeggianti, poco coloriti, sempre meno coloriti dei nuclei, simili in tutto ai *Cytoryctes* dell'epitelio corneale (tav. VII, fig. 9).

Nei preparati coloriti col metodo di Biondi, mentre l'eleidina dello strato granuloso non si distingue bene perchè i granuli non appaiono differenziati, i corpuscoli vaccinici, come quelli dell'epi-

telio corneale, risaltano moltissimo, perchè i granuli rossi da cui sono per la massima parte ricoperti, risaltano accanto alla tinta rosea del protoplasma e a quella azzurra dei nuclei. S'intende che anche i corpuscoli vaccinici dell'epidermide, come quelli dell'epitelio corneale si vedono costituiti da una massa azzurra più o meno ricoperta di granuli rossi (tav. VIII, fig. 13).

Per seguire contemporaneamente le alterazioni dei *Cytoryctes* e l'attività delle cornee dopo il trattamento col cloruro di sodio, procedevo nel seguente modo. Innestavo un Coniglio in tutti e due gli occhi, avendo cura di fare i tagli più eguali che mi fosse possibile e di adoperare la stessa quantità dello stesso vaccino per avere le due cornee nelle stesse condizioni. Dopo tre giorni o due giorni e mezzo, secondo che l'infezione si sviluppava più o meno rapidamente, insomma quando all'esame macroscopico si vedeva che la cornea era intorbidata, ma non erano ancora caduti estesi tratti di epitelio, asportavo le cornee e le mettevo in un recipiente in cui avevo preparata la soluzione di cloruro di sodio, poi con l'una innestavo un Coniglio, l'altra la conservavo per sezionarla. Prima di adoperarle, per togliere i resti di cloruro di sodio, senza alterare i *Cytoryctes*, le sciacquavo con acqua e glicerina. Per la fissazione non ho più adoperato l'alcool assoluto, come avevo fatto la prima volta, ma ho passato le cornee tolte dalle soluzioni di cloruro di sodio e sciacquate in acqua e glicerina, nella soluzione concentrata di sublimato con cloruro di sodio per poterle paragonare alle cornee vaccinate non sottoposte a speciali trattamenti. Per la colorazione ho adoperato l'emallume e l'ematossilina ferrica di Heidenhain. Colle cornee state in cloruro di sodio, la colorazione colla miscela di Biondi non è più riuscita.

Ecco i resultati ottenuti nei singoli casi.

1° *Azione della soluzione acquosa di cloruro di sodio al 10 %₀ per 24 ore.* — All'esame macroscopico le cornee si vedono trasparenti eccetto che in sottili striscie lungo i tagli, dove appaiono leggermente opache.

Nelle sezioni l'epitelio corneale appare enormemente alterato; i nuclei delle cellule epiteliali sono raggrinzati; tutta la cromatina appare ristretta in un piccolo strato respinto verso un lato del nucleo, il resto del nucleo è occupato da un grande vacuolo. In un numero grandissimo di sezioni fatte con parecchie cornee non ho

riscontrato traccia di *Cytoryctes*. Però prima di dire scomparsi i *Cytoryctes*, ho esaminato i preparati a fortissimo ingrandimento (oc. 8 comp. ob. 1/15 Koristka.); con questo mezzo in alcune delle cellule epiteliali più vicine al taglio si vede accanto alla cromatina dei nuclei, per lo più nel grande vacuolo, un piccolo puntino colorito intensamente, dal quale partono quasi sempre filamenti sottilissimi che lo riuniscono al protoplasma cellulare. Si deve pensare che questi puntini rappresentino i *Cyctoryctes*, perchè si trovano soltanto in alcune cellule epiteliali vicine ai tagli, essi però sono rarissimi; a volte si possono esaminare parecchie sezioni senza riscontrarne alcuno, altre volte in una sezione se ne può rinvenire un certo numero, ma sempre di gran lunga inferiore, neanche paragonabile, al numero di *Cytorcytes* che si vedono normalmente nell'epitelio corneale vaccinato.

L'inoculazione dell'epitelio di altre cornee rimaste 24 ore nella soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ ha sempre prodotto nei Conigli un' infezione normale, non diversa da quella prodotta coll'innesto del vaccino. I resultati furono controllati coll'esame microscopico; i *Cytoryctes* nelle cornee innestate coll'epitelio corneale vaccinato stato 24 ore nella soluzione al 10 °/₀ di cloruro di sodio erano numerosissimi.

2° *Azione della soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ per 37 ore.* — Nelle cornee rimaste 37 ore nella soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ si nota la tendenza dell' epitelio a separarsi dal connettivo. Per osservare i *Cytoryctes*, seguendo il metodo già indicato da Hückel, ho ottenuto sezioni sottilissime, togliendo col microtomo dalle cornee imparaffinate, per mezzo di sezioni tangenziali, quasi tutto il tessuto connettivo e sezionando in seguito perpendicolarmente alla superficie dell' epitelio, le listerelle sottilissime rimaste. Le sezioni così ottenute dello spessore di 3 μ sono state colorite coll'emallume o coll' ematossilina ferrica. Esaminate a fortissimo ingrandimento non si presentano molto diverse da quelle rimaste in cloruro di sodio 24 ore. La cromatina dei nuclei si presenta ridotta ; i *Cytoryctes* in grandissima parte sono scomparsi. Anche qui, in moltissime sezioni non se ne trova più nessuno, qualche volta nei vacuoli vicini ai nuclei si trovano piccoli corpuscoli congiunti al protoplasma cellulare con filamenti sottilissimi, qualche nucleo eccezionalmente appare meno alterato, e presenta

esternamente uno o due corpicciuoli più facilmente riconoscibili per *Cytorytes* (tav. VII, fig. 8), ma anche queste forme meglio conservate, che sono estremamente scarse, si vedono solo coi più forti ingrandimenti e sono assai diverse dai *Cytoryctes* normali.

L'epitelio di cornee vaccinate state 37 ore nella soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀, innestato in altri Conigli si è dimostrato ancora attivo. L'infezione prodotta non è più leggera di quella che si ottiene normalmente coll' innesto del vaccino.

3° *Azione della soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ per 48 ore.* — Dopo 48 ore l'epitelio si distacca con maggior facilità dal connettivo. Nelle sezioni sottilissime ottenute col metodo già indicato si vede che l'epitelio è ancora più alterato che nei casi precedenti. La cromatina è ristretta in una listerella spinta ad un estremo del nucleo, il resto è anche in questo caso occupato da un grande vacuolo. In questi vacuoli nelle vicinanze dei punti in cui fu praticato il taglio, si distinguono dei sottilissimi filamenti che si congiungono verso il centro, nel punto di unione vi è un piccolo corpicciuolo tondeggiante; altre volte invece di un solo corpuscolo tondeggiante ve ne sono due o tre, nella gran maggioranza dei casi dentro al vacuolo non si distingue niente (tav. VII, fig. 11). Molto raramente fuori del vacuolo si vede qualche corpuscolo tondeggiante circondato da un alone chiaro che ricorda più da vicino i *Cytoryctes*, ma che certamente se è un *Cytoryctes* è molto alterato.

L'epitelio di cornee state 48 ore nella soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ innestato nelle cornee di altri Conigli, ha prodotto un' infezione forse più forte, certamente non più debole di quella che si ottiene di solito coll' innesto del virus corneale non alterato.

I resultati furono confermati coll' esame microscopico ; nelle cornee innestate con cornee state 48 ore nella soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀, il numero dei *Cytoryctes* era forse superiore a quello riscontrato tutte le altre volte.

4° *Azione della soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ per 4 giorni.* — Ho voluto prolungare di più l'azione della soluzione di cloruro di sodio al 10 °/₀ per vedere se a lungo andare finiva per attenuare l'attività del vaccino. Ho messo due cornee nella soluzione di cloruro di sodio e ve le ho lasciate 4 giorni. Dopo questo tempo l'epitelio si distaccava dal connettivo con somma facilità, bastava strisciarvi sopra una lancetta perché vi rimanesse attaccato. Valen-

domi di ciò, invece di fissare tutta quanta la cornea per studiare i *Cytoryctes*, ho raccolto solo i frammenti di epitelio e li ho fissati separatamente. Con questo epitelio ho potuto avere sezioni sottilissime. Esso si presenta molto alterato. Le cellule tendono a distaccarsi l'una dall'altra, la cromatina dei nuclei appare condensata in una sottile strisciolina, presso a poco come nei preparati precedenti. Non ho trovato nessuna traccia di *Cytoryctes*.

Coi frammenti di epitelio raschiati dall' altra cornea ho innestato un Coniglio e non ho avuto l'infezione. Però la gran facilità con cui l'epitelio si separava dal connettivo mi ha fatto pensare che i frammenti infetti, i più facili a distaccarsi, si fossero dispersi nel liquido. Per questo ho ripetuto l'esperimento adoprando altre due cornee vaccinate e tenute 4 giorni in soluzione di cloruro di sodio al 10 %, per innestare un altro Coniglio. Non ho più ripetuto l'esame microscopico di queste cornee così trattate perchè se i *Cytoryctes* erano già scomparsi nei casi precedenti, non potevano in questo trovarsi conservati.

Coll'epitelio tratto da una delle due cornee ho innestato un Coniglio in un occhio e coll'epitelio tratto dall'altra cornea ho innestato lo stesso Coniglio nell'altro occhio. Prima dell'innesto ho lavato ripetutamente una delle due cornee vaccinate, con acqua e glicerina, per esser sicura che non vi fossero traccie della soluzione in cui erano state immerse, l'altra non l'ho lavata e ciò per decidere se l'infezione (dato che si fosse prodotta) dipendesse proprio dall'epitelio e non dal liquido.

Nel Coniglio così innestato si è prodotta in tutti e due gli occhi l'infezione normale.

5° *Azione della soluzione concentrata di cloruro di sodio per 24 ore.* — Ho studiato l'azione della soluzione concentrata di cloruro di sodio per vedere se con una grande quantità di sale si distruggesse l'attività del vaccino (è noto che la soluzione satura di cloruro di sodio contiene circa il 35 % di sale) Perquanto la solubilità del cloruro di sodio vari assai poco colla temperatura, pure ho preparato la soluzione di cloruro di sodio nell'acqua distillata a caldo, poi l'ho lasciata freddare, ed ho adoperato la parte superiore del liquido travasandolo senza filtrare. In questa soluzione ho lasciato le due cornee infette di un Coniglio per 24 ore, poi ho sciacquato ripetutamente le cornee con acqua e glicerina. Dall'una ho raschiato

l'epitelio per innestare un Coniglio, l'altra l'ho fissata al solito colla soluzione satura di sublimato, e l'ho sezionata.

In questa l'epitelio si presenta molto meno alterato di quello delle cornee state nelle soluzioni di cloruro di sodio al 10 °/₀. Forse la soluzione concentrata ha agito quasi come un fissativo. I nuclei sono alquanto deformati, ma non presentano che eccezionalmente quei grandi vacuoli che nei casi precedenti si vedevano quasi in ogni cellula. Anche i *Cytoryctes* si riscontrano con minore difficoltà e le loro dimensioni non sono molto ridotte (tav. VII, fig. 10). Alcuni, nei preparati coloriti coll'emallume hanno una tinta abbastanza intensa, altri però sono pallidissimi e appena visibili; molti devono esser scomparsi perchè il loro numero è minore assai di quello che si riscontra normalmente nelle cornee vaccinate.

L'epitelio inoculato in un Coniglio si è dimostrato ancora attivo.

Ho inoculato nella cornea di un Coniglio anche un pò della soluzione satura di cloruro di sodio in cui erano state immerse le cornee. Non si è prodotta un'infezione che potesse scambiarsi neanche col solo esame macroscopico, coll'infezione vaccinica.

6° *Azione della soluzione di cloruro di sodio al 2 °/₀ per 6 ore.* — Ho sottoposto le cornee vaccinate all'azione delle soluzioni deboli di cloruro di sodio per due motivi; 1° perchè una soluzione debole, esercitando un'azione più lenta, avrebbe permesso di riconoscere più facilmente il genere di alterazione prodotta, 2° perchè se nei *Cytoryctes* esisteva una membrana, forse per fenomeni di plasmolisi, sarebbe venuta in evidenza.

Due cornee vaccinate furono messe nella soluzione di cloruro di sodio al 2 °/₀; dopo 6 ore entrambe furono fissate colla soluzione satura di sublimato e colorite coi soliti metodi. Non ho innestato con esse nessun Coniglio, perchè l'esperienza mi sembrava superflua, dopo i resultati ottenuti nei casi precedenti.

Nei preparati ottenuti con queste cornee, coloriti coll'emallume (tav. VII, fig. 12), le forme piccole tondeggianti omogenee di *Cytoryctes*, che nelle cornee vaccinate normali si trovano tanto numerose, sono più scarse ed in alcuni preparati non si vedono. I *Cytoryctes* appaiono anche modificati perchè non danno la solita reazione colle sostanze coloranti (nei preparati coloriti con ematossilina ferrica ed eosina alcun hanno un color rossiccio, (tav. VIII, Fig. 5)

invece che nero; in moltissime cellule si vedono una quantità di granuli, ma spesso sotto ai granuli non si distingue una massa omogenea, sì che i granuli appaiono sparsi per il protoplasma delle cellule epiteliali. A volte sembra di intravedere sotto ai granuli una massa pallidissima, (tav. VIII, fig. 6). Di solito nei *Cytoryctes* coloriti coll'ematossilina ferrica, la massa sottoposta ai granuli si distingue benissimo quando i preparati sono scoloriti in modo da rendere appena visibili i nuclei delle cellule epiteliali, nei preparati ottenuti con le cornee sottoposte all'azione del cloruro di sodio al 2 %, colorite colle stesso mezzo, la massa sottoposta ai granuli non si vede più, prima ancora che la colorazione dei nuclei sia differenziata. In nessuna forma si vede traccia di una membrana.

Le soluzioni di cloruro di sodio alterano enormemente i Cytoryctes *fino a farli scomparire, non modificano sensibilmente l'attività del vaccino.*

PARTE III

RICERCHE SULLA CLAVELÉE (vaiolo degli Ovini)

Come ho già detto nei cenni storici, allo studio della *clavelée* sono stata indotta specialmente dalle ricerche del Bosc e sopratutto dalla sua pubblicazione « Les maladies à Sporozoaires » in cui descrive quali parassiti della *clavelée* corpuscoli intracellulari somigliantissimi ai *Cytoryctes vaccinae*, ed oltre a questi, altri corpuscoli intracellulari con un nucleo assai evidente, altri in forma di cisti contenenti spore nucleate, ecc. Da questa pubblicazione era nata la speranza di determinare la natura dei parassiti della *clavelée* e, per analogia, ricavare qualche luce sulla natura dei corpuscoli vaccinici.

Lo stesso Prof. Bosc, dietro nostra richiesta, ci ha usata la cortesia di spedirci una pustola di *clavelée* indicandoci la maniera di usarla per l'inoculazione. Con questa pustola ho innestato una Pecora secondo le indicazioni di Bosc, cioè scarificando la Pecora sulla coda dopo averla rasata a secco, e inoculando la raschiatura della pustola con un po' della linfa che ne colava colla pressione. Colla stessa pustola ho innestato anche un Coniglio con incisioni nell'epi-

telio corneale, seguendo lo stesso metodo usato per l'innesto del vaccino.

Dopo tre giorni le cornee di questo Coniglio presentavano lungo i tagli leggeri intorbidamenti, però non si notava la caduta di tratti di epitelio più o meno estesi, fatto che si verifica nelle cornee innestate con vaccino. Le cornee di Coniglio innestate con *clavelée* furono asportate tre giorni dopo l'innesto, fissate colla soluzione acquosa satura di sublimato con 0.50 % di cloruro di sodio, le sezioni furono poi colorite coll'emallume o colla miscela di Biondi. Nei preparati coloriti coll'emallume (tav. VII, fig. 13) le cellule epiteliali situate vicino ai tagli presentavano presso ai nuclei, corpicciuoli tondeggianti poco coloriti, in tutto simili alle forme piccole, tondeggianti dei corpuscoli vaccinici; questi corpuscoli erano in numero relativamente scarso, molto inferiore al numero dei corpuscoli vaccinici che si riscontrano di solito dopo tre giorni nelle cornee vacinate con esito normale.

Nei preparati coloriti colla miscela di Biondi (tav. VIII, fig. 14), i corpuscoli della *clavelée* si comportavano diversamente dai corpuscoli vaccinici. Mentre i piccoli *Cytoryctes vaccinae* si colorano uniformemente in azzurro, questi corpuscoli assumevano una tinta violacea tendente al rosso; certe forme un pò più grandi apparivano colorite in rosso. Osservate a fortissimo ingrandimento resultavano costitutite da un reticolo con dei granuli, sotto al reticolo non si vedeva la massa azzurra che si riscontra nei corpuscoli vaccinici. Debbo osservare che non posso attribuire grande valore a questi resultati perchè non mi è riuscito più di produrre un' infezione nell' epitelio corneale di Coniglio, coll' innesto di *clavelée*. Tuttavia non saprei trovare in questo primo tentativo riuscito, nessuna causa di errore perchè ho avuto cura di adoperare per l' innesto ferri tutti nuovi e di tener separati gli animali innestati con *clavelée* da quelli innestati con vaccino. Noto inoltre che nella stessa miscela in cui colorivo i preparati di cornea infetta di *clavelée*, per confronto, ne colorivo altri di epitelio corneale di Coniglio innestato con vaccino, ed in questi i *Cytoryctes vaccinae* presero il solito color azzurro.

Più importanti sono i resultati ottenuti coll'inoculazione della *clavelée* nelle Pecore.

Nella prima Pecora innestata colla *clavelée* spedita da Bosc, si è

prodotta un'infezione leggerissima. Nel luogo dell'inoculazione, tre e quattro giorni dopo l'innesto la cute si presentava arrossata e sembrava accennasse alla formazione di una pustola. Non ho tagliata la cute nel luogo infetto supponendo che in seguito si sarebbe manifestata un' eruzione generale, perchè il Bosc (nel lavoro del 1901) dice che negli Agnelli francesi l'inoculazione alla coda produce una pustola saliente voluminosa di colorazione rosea leggermente violacea, che raggiunge il suo massimo nel 12° giorno, che un'eruzione generalizzata invece appare dall' 8° al 12° giorno e può diventare confluente. La febbre diviene poi intensa, la respirazione anelante l' Agnello si indebolisce e muore. Nella Pecora da me innestata invece non è proseguita la formazione della pustola, e l'animale è guarito spontaneamente (1).

Col residuo della pustola spedita da Bosc, ho innestato un' altra Pecora, coi medesimi resultati. Questa volta però non ho aspettato che la pecora guarisse, ma dopo 7 giorni ho asportata la pelle arrossata tagliata dal luogo in cui era stata fatta l'inoculazione e coi soliti metodi l'ho fissata e sezionata. Parlerò più avanti delle osservazioni microscopiche perchè i resultati ottenuti in tutti i casi in cui fu osservata la pelle concordano pienamente, quindi li riferirò tutti insieme.

In questo frattempo ci era stato spedito altro virus di *clavelée* dal Prof. Nocard. Con questo virus ho innestato le due cornee di una Pecora colla speranza di avere un'infezione paragonabile a quella che si ottiene col vaccino nei Conigli, ma non ho avuto nessun resultato perchè nelle cornee non si è prodotta nessuna reazione, come pure non si è prodotta nessuna reazione nell' epitelio corneale di un Coniglio innestato collo stesso virus.

Sempre col virus spedito da Nocard ho innestata una Pecora nella coda. Come era avvenuto nei casi precedenti, si è sviluppata soltanto un' infezione locale ; contemporaneamente collo stesso virus ho innestato le cornee di un Coniglio; il Coniglio è morto dopo due giorni, le cornee non presentavano traccia di alterazione.

Dalla pecora innestata nella coda ho tolto un frammento di cute dopo 7 giorni e un altro dopo 14 giorni. Questi frammenti furono conservati per l'esame microscopico. Con un altro frammento

(1) La reazione diversa dovrà forse attribursi alla razza diversa degli animali.

di cute tolta dal luogo in cui fu praticato l' innesto dopo 14 giorni, ho innestata un' altra Pecora. In questa oltre alla solita reazione locale, 11 giorni dopo l' innesto, si osservavano in tutto il corpo numerosissime pustoline.

Da questa Pecora furono conservati per l'esame microscopico un pezzo di pelle tolto dal luogo dell'innesto 10 giorni dopo, parecchie pustoline raccolte 11 e 14 giorni dopo l'innesto, ed altre pustoline asportate 20 giorni dopo l'innesto.

Con queste pustole ho innestato anche le cornee di due Conigli. Dopo 4 giorni nelle cornee si osservava soltanto un leggero intorbidamento lungo i tagli. Le cornee di un Coniglio furono asportate e fissate 5 giorni dopo l'innesto; quelle dell'altro Coniglio dopo 8 giorni. Tanto nelle prime che nelle seconde, i tagli si presentavano quasi completamente rimarginati; nelle cellule epiteliali non si osservavano corpuscoli paragonabili ai *Cytoryctes* o ai corpuscoli altravolta ottenuti. Solo in alcune cellule si vedeva qualcuno di quei corpuscoli che, secondo quanto è già stato dimostrato, si producono per semplice azione meccanica.

Esame della pelle di Pecora innestata con clavelée. — Riunisco tutte insieme le descrizioni delle varie forme di inclusioni cellulari osservate nella pelle di Pecora infetta di *clavelée* perchè, come ho già detto, in tutti i casi ho ottenuto resultati perfettamente concordanti.

Per la fissazione ho usato il liquido di Flemming, oppure la soluzione satura di sublimato con 0.50 °/₀ di cloruro di sodio, od anche l'acido acetico al 5 °/₀. Ho adoperato quest'ultimo mezzo per verificare se esercitasse un'azione sui granuli, e per questo l'ho adoperato solamente in qualche caso, mentre di solito per poter stabilire un confronto, ho fissato contemporaneamente gli stessi pezzi parte in sublimato e parte in liquido di Flemming.

Per la colorazione ho usato al solito l'emallume, l'ematossilina ferrica di Heidenhain, la miscela di Biondi. I preparati più appariscenti si hanno colla miscela di Biondi, mezzo comodissimo per distinguere prontamente le forme di inclusioni cellulari che furono interpretate per parassiti. Le stesse cose, però, si osservano coll'ematossilina ferrica; molto meno evidenti sono i preparati coloriti coll'emallume; tutto questo concorda perfettamente con quanto avviene per i corpuscoli vaccinici.

Nelle sezioni di pelle di Pecora tolta dalla coda nel luogo dell'inoculazione dopo 7 giorni, nelle vicinanze delle pustola, le cellule del corpo mucoso di Malpighi e quelle delle ghiandole sebacee, ma non tutte, anzi solo poche, presentano accanto ai nuclei, piccoli corpuscoli tondeggianti paragonabili ai piccoli *Cytoryctes* o a quelli di media grandezza, per la forma e per il modo di comportarsi colle sostanze coloranti. Anche questi corpuscoli, di regola, stanno uno per cellula.

Nella pelle di Pecora tolta dalla coda 10 giorni dopo l'innesto e nelle pustoline asportate 11 giorni dopo l'innesto il numero dei corpuscoli è assai aumentato; si riscontrano ancora molte forme tondeggianti omogenee, ed oltre a queste se ne distinguono altre più grandi a contorni irregolari, costituite, come i più grandi corpuscoli vaccinici, da una massa omogenea più o meno ricoperta di granuli. Spesso, osservando con grande attenzione, si vedono tra i granuli filamenti sottilissimi i quali però si distinguono soltanto nei preparati coloriti coll'ematossilina ferrica osservati a fortissimo ingrandimento (Oc. 8 comp. ob. 1/15 imm. om. Kor.) Il metodo di fissazione non influisce sensibilmente sui resultati che si ottengono (tav. VIII, fig. 8 *a*, *b*, *c*).

Le figure più grandi, più belle, più caratteristiche, le ho osservate nei preparati di pelle tolta dalla coda della pecora 14 giorni dopo l'innesto. Nei preparati fissati con sublimato coloriti col metodo di Biondi (tav. VIII, fig. 15), si osservano una quantità di figure che a piccolo ingrandimento appaiono come corpuscoli rossastri, molto appariscenti ; a forte ingrandimento mostrano una struttura complicata che però in sostanza non differisce fondamentalmente da quella dei *Cytoryctes vaccinae*. Anche nei corpuscoli della *clavelée*, come nei *Cytoryctes*, si distingue una massa colorita in azzurro e tanti granuli rossi di dimensioni svariate, a volte tondeggianti, a volte allungati a forma di pera o di piccole clave.

A differenza di quanto si osserva nei *Cytoryctes*, molto spesso nel centro della massa azzurra vi è un granulo rosso rotondo, molto più grande degli altri. Questo grosso granulo non è costante, a volte ha forma di cifra 8, a volte è doppio. Attorno a questo grosso granulo, sopra alla massa azzurra sono distribuiti i piccoli granuli rossi in maniere svariatissime. Alcune volte sono disposti disordinatamente, altre volte formano un cerchio che limita la parte

azzurra, altre volte i granuli sono allontanati dalla massa azzurra alla quale si vedono congiunti per mezzo di sottilissimi filamenti disposti a guisa di raggi. In certe figure sembra che dalla massa azzurra partano vari ordini di raggi di lunghezze differenti terminanti ciascuno con un granulo rosso, sì che nell'insieme risulta un corpo asteroide elegantissimo.

Le stesse figure si vedono nei preparati coloriti con ematossilina ferrica. Questi corpi sono straordinariamente numerosi. Si vedono nel miglior modo nelle cellule delle glandule sebacee, vicine alla pustola; quasi nessuna cellula ne è priva.

Non differenti erano i corpi osservati nelle pustole asportate 21 giorno dopo l'innesto della *clavelée*, ma queste pustole si erano manifestate tardi e forse il processo non era più avanzato di quel che fosse nella pelle tolta dalla coda 14 giorni dopo l'innesto.

Questi corpi che, specialmente nei preparati coloriti colla miscela di Biondi si presentano in modo brillante, non possono a meno di richiamare fortemente l'attenzione, ma, quando si vada a studiarli minutamente, si ripete quanto avveniva per i corpuscoli vaccinici, vale a dire non si determina il limite del supposto parassita. Infatti, mentre ad un certo livello si vedono ben determinate le figure sopradescritte, alzando od abbassando la vite micrometrica, si vedono altri granuli rossi ed altri filamenti assai più lontani dalla massa azzurra, ed in alcuni casi, girando ancora la vite micrometrica, si può non vedere altro che una rete di filamenti, con tanti granuli, rete che si estende ad occupare gran parte della cellula (1). Anche qui, come nei corpuscoli vaccinici, l'irregolarità

(1) Il Dr. A. Negri ha dimostrato nelle cellule del pancreas e delle ghiandole salivari del Gatto ed in altre cellule ghiandolari di altri Mammiferi, la presenza di un fine apparato reticolare simile a quello descritto dal Prof. Golgi nelle cellule nervose, e dal Dott. Pensa nelle cellule della sostanza midollare delle capsule soprarenali dei Mammiferi. Tale apparato è situato in vicinanza dei nuclei, e costituito da fili intrecciati in vario modo, nella maggior parte dei casi disposti come una rete a maglie più o meno fitte e regolari, con punti nodali più o meno ingrossati ed evidenti. Il significato non è dimostrato. Il Dr. Negri accenna alla possibilità che questo apparato sia l'espressione di una parte di protoplasma, in un modo qualunque differenziato dal resto (nel suo caso, per opera della reazione cromo-argentea).

Questo fatto sembra possa mettersi in rapporto colle mie osservazioni. Il reticolo che si vede specialmente sui corpuscoli situati nelle ghiandole sebacee, e che si continua col protoplasma della cellula, potrebbe essere una parte del protoplasma differenziato per opera del parassita sconosciuto della *clavelée*. La mia è una semplice ipotesi che merita conferma.

nelle forme è estrema; anche qui non ho trovato forme incistate che accennino ad una fase duratura, nè dentro le cellule epiteliali o ghiandolari situate nelle vicinanze della pustola, nè nella pustola stessa, anzi, proprio nel centro della pustola, dove è lo straordinario accumulo dei leucociti, non si riconoscono più neanche quelle forme che sono tanto numerose nelle vicinanze della pustola. Si direbbe dunque che le cellule vadano incontro ad un processo di degenerazione, che comprende anche i supposti parassiti.

Tutte le conclusioni dedotte dall'esame dei corpuscoli vaccinici possono applicarsi anche ai corpuscoli della *clavelée*, non solo, ma vi si aggiunge il fatto sfavorevole all'ipotesi parassitaria, che il virus della *clavelée*, come si è detto, passa attraverso il filtro, pure i corpuscoli della *clavelée*, in complesso, sono forse più grandi, certamente non più piccoli, dei corpuscoli vaccinici.

I resultati tratti dallo studio della clavelée *non fanno che confermare le deduzioni ricavate dallo studio dei corpuscoli vaccinici, deduzioni che sono contrarie all'ipotesi parassitaria.*

CONCLUSIONI

I miei studi, ispirati dalla speranza di trovare argomenti che dimostrassero in modo assoluto la natura parassitaria dei corpuscoli vaccinici, mi hanno invece condotto ad escludere che essi siano esseri viventi.

Questa conclusione è dedotta : 1° dall'esame, basato su ricerche originali, degli argomenti che vengono portati dai vari autori a sostegno dell'ipotesi parassitaria ; 2° dai resultati di esperienze da me condotte per diversa via; 3° dallo studio di forme affini, quali i corpuscoli della *clavelée* (vaiolo degli Ovini).

I

Studiando gli argomenti portati a sostegno della natura parassitaria dei corpuscoli vaccinici, ho dovuto conchiudere :

1° La specificità dei corpuscoli vaccinici, per quanto risulta

dalle mie osservazioni può ritenersi dimostrata, e questo è il solo fatto che parli in favore dell'ipotesi parassitaria;

2° La forma, la struttura, le proprietà dei corpuscoli vaccinici non danno motivi sufficienti per farli definire esseri viventi.

α. — Riguardo alla forma, si nota una varietà enorme nelle dimensioni e nelle configurazioni. Alcune figure, considerate separatamente, possono presentare aspetto di Amebe o di Sporozoi, ma osservando tutte le cosidette inclusioni cellulari che si ottengono nelle cornee vaccinate di Coniglio, da una parte non può separarsi con sicurezza ciò che può ritenersi prodotto di degenerazione, (parte eritrofila) da ciò che appare specifico (parte cianofila), dall'altra non si può trovare il confine tra il supposto parassita e la cellula epiteliale.

β. — Riguardo alla struttura, non si distingue un protoplasma ed un nucleo, e neanche un protoplasma e cromidi o una rete cromidiale, ma, riunendo i resultati di infinite osservazioni, tutte le forme si possono ridurre ad una massa più o meno densa, sulla quale si stende, più o meno completa, una rete di filamenti con tanti granuli, rete che si congiunge in qualche punto col protoplasma della cellula, e che probabilmente è una parte del protoplasma stesso. Alcune forme più piccole (cianofile) potrebbero dar luogo all'ipotesi che si trattasse di Batteri, ma anche questa ipotesi deve escludersi perchè non si dimostra in esse nessun carattere di Batterio (non si vedono nè cromidi, nè rete cromidiale, manca la cosidetta membrana, mancano le cilia, non si ottennero mai fenomeni di plasmolisi, ecc.); le stesse ragioni valgono per escludere l'ipotesi, per un momento da me presa in considerazione, che potessero essere Batteri i granuli (eritrofili); vi si aggiunge l'altra ragione che i granuli appaiono congiunti tra loro per mezzo di filamenti.

γ. — Riguardo alle proprietà, non ho potuto verificare l'esistenza di movimenti ameboidi, cosa che non è riuscita neanche ad Hückel, le cui osservazioni, per comune consenso, sono ritenute esattissime.

Le forme che alcuni interpretano come fasi di riproduzione, dopo un minuto esame non possono essere considerate come tali. Alcune figure sembrano, è vero, figure di divisione, ma la loro estrema irregolarità e variabilità, impediscono di asserire che esse rappresentino forme di riproduzione di un essere vivente. Moltissime

altre figure scelte tra i corpi costituiti da una massa omogenea più o meno ricoperta di granuli, potrebbero venir interpretate come forme di sporulazione, se non che, i granuli nel vaccino sono alla superficie e non all'interno del corpuscolo, sono congiunti tra loro da filamenti, hanno dimensioni diversissime e non possono venir distinti dai granuli che si ottengono irritando la cornea con soli mezzi meccanici. Si aggiunge anche il fatto che l'esame di moltissime forme di corpuscoli vaccinici non mostra il ripetersi delle stesse figure con un ritmo tale, da permettere di ricostruire il ciclo di sviluppo di un essere vivo.

3° Gli altri argomenti portati a sostègno dell'ipotesi parassitaria, quali la presenza costante dei corpuscoli vaccinici (cianofili) nell' epitelio delle cornee inoculate con linfa attiva e la loro mancanza in quello di cornee inoculate con linfa inattiva o con altre sostanze, il trovarsi le forme più grandi al centro del focolaio d'infezione e quelle più piccole alla periferia, la possibilità di trasmettere l'infezione da Coniglio a Coniglio per un numero indefinito di generazioni, ecc., hanno tutte un valore relativo, perchè nessun motivo si oppone al verificarsi di tali fatti, anche quando si ammetta che i *Cytoryctes* siano un'alterazione prodotta dall'agente ancora sconosciuto del vaccino.

II

Dalla serie di esperimenti da me condotti con nuovi criteri risultano i seguenti fatti.

1° Esponendo il virus corneale a vari trattamenti, quali il disseccamento, l'azione dell' acqua distillata, delle soluzioni acquose di cloruro di sodio a vari gradi di concentrazione, i *Cytoryctes* si alterano enormemente o scompaiono affatto, e tuttavia il virus corneale conserva la propria attività.

2° In nessun caso, in nessuno stadio, si osserva la formazione di cisti protettive, fatto che si verifica in tutti i Protozoi capaci di resistere a mutamenti d'ambiente e sopravvivere ad una permanenza in ambienti sfavorevoli. Non si riscontrano forme paragonabili alle spore durature dei Batteri.

III

Dallo studio della *clavelée* risulta che le forme di inclusioni cellulari che si presentano nella cute di animali infetti di tale malattia, sono simili ai corpuscoli vaccinici, e, come i corpuscoli vaccinici, non presentano caratteri di esseri vivi.

Il fatto che il virus della *clavelée* può passare attraverso il filtro, pur essendo i corpuscoli della *clavelée* certamente non più piccoli dei corpuscoli vaccinici, dimostra che i resultati negativi costantemente ottenuti nei tentativi di filtrazione del vaccino non bastano a provare che i parassiti del vaccino debbano aver dimensioni considerevoli e quindi essere identificati coi *Cytoryctes*.

⁂

Ritengo, per i motivi riferiti, che i Cytoryctes non siano esseri viventi parassiti del vaccino, senza escludere tuttavia che essi possano contenere i veri parassiti, non rilevabili coi nostri mezzi d'indagine.

Roma, Giugno 1903.

BIBLIOGRAFIA (1)

1883. — E. Warlomont, *Traité de la vaccine*. Paris.

1887. — L. Pfeiffer, Ein neuer Parasit des Pockenprozesses aus der Gattung Sporozoa. *Monatshefte für praktische Dermatologie*, VI, Hamburg und Leipzig.

1888. — L. Pfeiffer, Weitere Untersuchungen über Parasiten im Blut und in der Lymphe bei den Pockenprocessen. *Correspondenz-Blätter des allgemeinen ärztlichen Vereins von Thuringen*. N° 3.

1892. — G. Guarnieri, Ricerche sulla patogenesi ed etiologia dell'infezione vaccinica e vaiolosa. *Archivio per le scienze mediche*, XVI, n° 22, Torino e Palermo.

1893. — E. Ferroni e G. Massari. Sulla pretesa scoperta del Guarnieri, riguardo la infezione vaccinica e vaiolosa. *Riforma medica*, n° 126, Napoli.

1893. — A. Monti, Sui Protozoi del vaiolo e del vaccino e sulle localizzazioni del virus vaioloso. Nota preventiva. *Rendiconti della Società medico-chirurgica di Pavia*.

(1) Le pubblicazioni segnate con asterisco non furono consultate nel testo originale.

1894. — Babes, *Atti dell' XI Congresso med. intern.*, Roma, II, p. 134.
1894. — J. Clarke, *Brit. med. Journ. 1894, vol. II, pag. 869.*
1894. — G. Guarnieri. Sui parassiti del vaiolo e del vaccino. *Atti dell'XI Congresso med. intern.*, Roma.
1894. — A. Monti. Sull' eziologia del vaiolo e sulle localizzazioni del virus vaioloso. *Atti dell' XI Congresso med. intern.*, Roma.
1894. — L. Pfeiffer, Behandlung und Prophylaxe der Blattern. *Handbuch der Speciellen Therapie inneren Krankheiten*, Jena.
1894. — Ruffer e Plimmer, *British med. Journal, I*, p. 1412.
1895. — E. Pfeiffer. Ueber die Züchtung des Vaccineerregers in dem Corneaepithel des Kaninchens, ecc. *Centralblatt für Bakt.*, XVIII.
1895. — V. Sicherer, Beitrag zur Kenntniss des Variolaparasiten, *Münchner med. Woch.*
1896. — O. Leoni, *Sulla scoperta del modo di rendere bacteriologicamente puro il vaccino animale, ecc.* Roma, Tipografia delle Mantellate.
1897. — G. Guarnieri, Ulteriori ricerche sull' etiologia e sulla patogenesi dell' infezione vaccinica. *Clinica moderna*, III, Firenze.
1897. — Salmon*, Recherches sur l'infection dans la vaccine et dans la variole. *Annales de l'Institut Pasteur*, XI, n° 4.
1897. — V. Wasielewski, Ueber die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccineimpfungen (*Cytoryctes vaccinae* Guarnieri). *Centralblatt für Bakt.*, XXI, n° 24-25.
1897. — N. Solovtzov*, *Sur les microbes de la variole.* Pietroburgo.
1897. — F.-I. Bosc, Pathogénie et histogenèse du cancer et des maladies à Sporozoaires. *Comptes rendus du XIIe Congrès international de médicine*, Moscou.
1897 (?). — I. Delobel et P. Cozette, *Vaccine et vaccination.* Paris.
1898*. — London, Ueber die Körperchen von Guarnieri. *Journal der russischen Gesellschaft für öffentl. Gesundheitspflege.*
1898. — Hückel, Die Vaccinekörperchen. Nach Untersuchungen an der geimpften Hornhaut des Kaninchens. — *Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie*, 2. Supplementheft.
1898. — D. Bossalino, Intorno alle infezioni vacciniche della cornea. *Archivio per le scienze mediche.* XXII, n° 15.
1898. — G. Gorini, Il controllo del vaccino mediante le inoculazioni corneali. *Archivio per le scienze mediche*, XXIII, p, 127.
1898. — U. Musso, *Recherches sur le parasite de la vaccine.* Montpellier.
1899. — Vanselow und Czaplewski, Beitrag zur Lehre von Staphylokokken der Lymphe. *Centralblatt. für Bakt.*, XXV.
1899. — Id., Zur Lehre von Staphylokokken der Lymphe. *Ibidem.*
1900. — M. Ficker, Ueber den von Nakanishi aus Vaccinepusteln gezüchteten neuen Bacillus. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXVIII, n° 17.
1900. — G. Gorini, Sulle inclusioni cellulari nell' innesto vaccinico della cornea e sui loro rapporti colle inclusioni cellulari nei tumori maligni. Comunicazione preventiva. *Atti della R. Acc. dei Lincei*, (5), IX, 1° semestre, fasc. 7.

1900. — Id., Sulle inclusioni cellulari nei focolai vaccinici corneali. Seconda Nota preventiva. *Atti della R. Acc. dei Lincei*, (5), IX, 2° semestre, fasc. 1.

1900. — Id., Sull' infezione micetozoica della cornea comparata col l'infezione vaccinica stessa. Nota preventiva. *Atti della R. Acc. dei Lincei*, (5), IX, 2° semestre, fasc. 10.

1900. — K. Nakanishi, *Bacillus variabilis lymphae vaccinalis*, ein neuer constant in Vaccinepusteln vorkommender Bacillus. *Centralblatt für Bakt.*, XXVII, N° 18, 19.

1900. — Id. Nachtrag zu der vorigen Arbeit. *Ibidem*, XXVII, n° 10, 11.

1900. — W. Podwyssotzky, Myxomyceten, bezw. *Plasmodiophora brassicae* Woron., als Erzeuger der Geschwülste bei Thieren. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXVII, n° 3.

1900. — Roger et E. Weil, Note sur les nodules infectieux du foie dans la variole. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, n° 33.

1900. — Id., Inoculabilité de la variole humaine au Lapin. *Ibidem.*

1900. — Id., Inoculabilité de la vaccine au Lapin. *Ibidem.*

1900. — Id., Recherches microbiologiques sur la variole. *Ibidem.*

1900. — Siegel*, Untersuchungen über die Aetiologie der Acuten Exantheme. *Deutsche med. Wochenschrift.*

1900. — Siegel, Weitere Untersuchungen über die Aetiologie der acuten Exantheme. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXVII.

1901. — F.-I. Bosc, Les maladies à Sporozoaires. *Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, XII, n° 3.

1901. — Id. Le parasite de la clavelée. *Comptes-rendus de la Soc. de biologie.*

1901. — A. Calmette et C. Guérin, Recherches sur la vaccine expérimentale. *Annales de l'Institut Pasteur*, XV.

1901. — C. Gorini, Ueber die bei den Hornhaut-Vaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. *Centralblatt für Bakt.*, XXIX, n° 14.

1901. — Id., Ricerche sul vaccino sperimentale. *Supplemento al Policlinico*, Roma.

1901. — E. Nocard, A propos de la note de M. Bosc, intitulée : « Le parasite de la clavelée ». *Comptes-rendus de la Soc. de biologie.*

1901. — H. Roger et E. Weil, Deuxième note sur la variole expérimentale du Lapin. *Comptes-rendus de la Soc. de biologie.*

1901. — Von Wasielewski, Beiträge zur Kenntniss des Vaccines-Erregers. *Zeitschrift für Hygiene*, XXXVIII.

1902. — A. Borrel, Expérience sur la filtration du virus claveleux. *Comptes-rendus de la Soc. de biologie.*

1902. — F.-I. Bosc, Démonstration de la virulence du sang dans la clavelée. *Ibidem.*

1902. — Id., Etude des lésions claveleuses. *Ibidem.*

1902. — Id., De l'existence dans toutes les lésions claveleuses virulentes et dans le sang, de corps particuliers de structure précise. *Ibidem.*

1902. — Id., Recherches sur les lésions spécifiques de la peau, du poumon et du foie dans la variole. *Ibidem.*

1902. — C. Gorini, Ueber die bei den Hornhaut-Vaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXXII, n° 2.

1902. — G. Guarnieri, Studi sulla struttura e sullo sviluppo dei parassiti dell'infezione vaccinica. Nota preventiva. *Clinica moderna.* VII, n° 34.

1902. — T. Ishigami, Ueber die Kultur des Vaccine-resp. Variolaerregers. *Centralblatt für Bakteriol.*, XXXI, Originale.

1902. — F. Sanfelice e V. E. Malato, Studien über die Pocken. *Archiv für Dermatologie und Syphilis*, LXII, 2, und 3 Heft.

1902. — A. Foà. Rendiconto della terza assemblea generale e del convegno dell' Unione Zoologica Italiana in Roma. *Monitore Zoologico Italiano*, XIII, Supplemento, dicembre 1902.

1902. — A. Monti. *Ibidem.*

1902. — A. Foà, Studio sui *Cytoryctes vaccinae.* Nota preliminare. *Rendiconti della R. Acc. dei Lincei*, (5), XXII, 1° semestre, fasc. 2 e 3.

1903. — Sikorsky, De la nature des corpuscules de Guarnieri. *Archives des sciences biologiques, IX, fasc. 5,* (in russo). Riassunto nel *Bulletin de l'Institut Pasteur*, n° 1, 28 février 1903.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE VII E VIII

Tutte le figure sono state copiate colla camera lucida eccetto qualcuna, di cui sarà fatto cenno separamente. Le figure sono tolte da sezioni; le eccezioni saranno indicate volta per volta. Dove non è data altra indicazione s'intende che la fissazione è stata fatta in sublimato. In tutte le figure *Cy* = corpuscolo vaccinico (*Cytoryctes*); *c. cl* = corpuscolo di *clavelée.*

Tavola VII

Fig. 1. — Cellule di epitelio corneale di Coniglio, in cui si vedono le alterazioni prodotte per effetto dell'azione meccanica-Emallume. Ingrandimento delle tre cellule superiori 1200, delle tre inferiori 600.

Fig. 2. — *Cytoryctes vaccinae* osservati in sezioni sottilissime. *a*, *b*, *c*, ematossilina Delafield acidulata; *d*, *e*, *f*, emallume acidulato. In alcune di queste figure sembra di riconoscere un nucleo vescicolare; in realtà si tratta di un reticolo e di granuli, che, quando si possono studiare opportunamente, si riconoscono superficiali. × 2700.

Fig. 3 — Epitelio corneale di Coniglio vaccinato, disseccato e lasciato quindi 24 ore in acqua distillata; emallume. I *Cytoryctes* sono molto ridotti. × 1200.

Fig. 4. — Frammenti di epitelio corneale vaccinato di Coniglio, disseccato e lasciato 2 giorni in acqua distillata, fissato separatamente dal connettivo. Sezioni

sottilissime. Emallume. Nelle cellule più alterate si vedono i *Cytoryctes* ridotti enormemente. × 1200.

Fig. 5. — Frammento di epitelio corneale vaccinato, rimasto un'ora e mezza in acqua distillata. Emallume. × 1200.

Fig. 6. — Frammento di epitelio corneale vaccinato, rimasto 24 ore in acqua distillata. Emallume. Si vedono grandi vacuoli accanto ad alcuni nuclei, ma nessun *Cytoryctes*. × 600.

Fig. 7. — Cellule di epitelio corneale di Coniglio vaccinato, rimasto un'ora in acqua distillata. Emallume. Le cellule sono rigonfiate e presentano vacuoli. × 1200.

Fig. 8. — Cellule di epitelio corneale vaccinato di Coniglio, stato 37 ore in soluzione acquosa di cloruro di sodio al 10 °/₀. Emallume. Sono rappresentate le cellule meno alterate, scelte tra molte sezioni, in cui si conserva una traccia dei *Cytoryctes*. × 1200.

Fig 9. — Pustola vaccinica di 4 giorni tolta dal labbro di un Coniglio. Emallume. I granuli di eleidina sono coloriti intensamente, i *Cytoryctes* debolmente. × 600.

Fig. 10. — Cellule di epitelio corneale di Coniglio rimaste 24 ore in soluzione acquosa satura di cloruro di sodio. Ematossilina ferrica ed eosina. × 1200.

Fig. 11. — Varii frammenti di epitelio corneale vaccinato, stato 48 ore in soluzione acquosa di cloruro di sodio al 10 °/₀. Emallume. I frammenti sono scelti tra molti preparati e rappresentano i punti in cui si distinguono meglio le tracce dei *Cytoryctes*. × 1200.

Fig. 12. — Epitelio corneale vaccinato di Coniglio rimasto 6 ore in soluzione acquosa di cloruro di sodio al 2 °/₀. Emallume. × 1200.

Fig. 13. — Epitelio corneale di Coniglio innestato con *clavelée*. Emallume. × 1200.

TAVOLA VIII

Per le figure 1-14 l'ingrandimento è 1200.

Fig 1. — Struttura di alcuni corpuscoli vaccinici dell' epitelio corneale di Coniglio. Fissazione con liquido di Flemming (*d*) o acido acetico 5 °/₀ (*a*, *b*, *c*). Ematossilina ferrica.

Fig. 2. — Varie forme di corpuscoli vaccinici osservati in una sola sezione di epitelio corneale di Coniglio. Ematossilina ferrica.

Fig. 3. — Frammento di epitelio corneale di Coniglio vaccinato, rimasto un' ora e mezza in acqua distillata. Ematossilina ferrica ed eosina.

Fig. 4. — Alcune cellule di epitelio corneale di Coniglio vaccinato, rimasto 6 ore in acqua distillata. Ematossilina ferrica. Le cellule disegnate furono scelte in varie sezioni, nel taglio praticato per l'innesto.. Accanto ai nuclei si vede un corpuscolo a struttura reticolare, che in alcuni casi (*a*, *b*) rassomiglia ancora alquanto ai *Cytoryctes*, in altri non ha limiti definiti.

Fig 5. — Frammento di epitelio corneale di Coniglio vaccinato, rimasto 6 ore in soluzione acquosa di cloruro di sodio al 2 °/₀. Ematossilina ferrica ed eosina. Alcuni *Cytorcytes* appaiono coloriti in rossigno.

Fig. 6 — Altro frammento dello stesso epitelio corneale nelle cui cellule si vedono moltissimi granuli appartenenti ai *Cytoryctes*. Ematossilina ferrica. Sotto ai granuli s' intravede solo, o non si vede affatto, la massa omogenea.

Fig. 7. — Corpuscoli che si osservano nei preparati di linfa vaccinica fresca, non glicerinata, fatti per strisciamento, fissati con reattivo di Schaudinn. Ematossilina ferrica: *a*, da linfa estratta dalla pustola di Vitella 5 giorni dopo l'innesto; *b*, da linfa estratta 6 giorni dopo l'innesto; *c*, da linfa estratta 7 giorni dopo l'innesto.

Fig. 8. — *a*, *b*, *c*, cellule di ghiandole sebacee di Pecora con corpuscoli di *clavelée* (il citoplasma non e disegnato; nelle fig. *b* e *c* è accennata soltanto una parte del contorno del nucleo); *d*, cellula epiteliale (?) osservata nella pustola di *clavelée*. Ematossilina ferrica.

Fig. 9. — Cellula di epitelio corneale di Coniglio non vaccinato, in cui fu praticato un taglio profondo. Miscela di Biondi. Nel protoplasma si osservano leggeri ispessimenti.

Fig. 10. — Frammento di epitelio corneale di Coniglio non vaccinato in cui fu praticato un taglio profondo-Miscela di Biondi. Nel protoplasma si vedono granuli eritrofili, di dimensioni svariatissime.

Fig. 11. — Varie forme di corpuscoli vaccinici che presentano l'aspetto figure di divisione. Miscela di Biondi.

Fig. 12. — Cellule di epitelio corneale di Coniglio con corpuscoli vaccinici. Fissazione con sublimato alcoolico-acetico. Miscela di Biondi. Sopra ai corpuscoli vaccinici si distende una rete con tanti granuli. Le fig. *c*, *d*, rappresentano una stessa cellula vista a due livelli.

Fig. 13. — Frammento di pustola vaccinica del labbro di un Coniglio. Miscela di Biondi.

Fig. 14. — Epitelio corneale di Coniglio innestato con *clavelée*. Miscela di Biondi

Fig 15. — Disegnata senza camera lucida. Varie cellule di ghiandole sebacee di Pecora, con corpuscoli di *clavelée*, 14 giorni dopo l'innesto. Miscela di Biondi.

Fig. 16. — Disegnata senza camera lucida. Corpuscoli vaccinici osservati a fresco in acqua e glicerina. Raschiatura dell'epitelio corneale di Coniglio

Fig. 17. — Disegnata senza camera lucida. Corpuscoli osservati nella linfa vaccinica non glicerinata, mentre compivano movimenti ameboidi. — *a*, globulo rosso. Coi numeri progressivi sono indicate le varie posizioni assunte successivamente da uno stesso corpuscolo.

LES FÊTES DE PASTEUR A CHARTRES

Un monument, élevé à la gloire de PASTEUR sur la place Saint-Michel, à Chartres, a été inauguré le dimanche 7 juin 1903, à 2 heures de l'après-midi, pendant les fêtes du Comice agricole.

Ce monument magnifique (pl. IX) est l'œuvre d'un Chartrain, le Dr Paul RICHER, membre de l'Académie de médecine, professeur d'anatomie à l'Ecole des Beaux-Arts, dont nos lecteurs connaissent et apprécient le fin talent. L'éminent artiste, trouvant la meilleure inspiration dans sa double qualité de médecin et de statuaire, a su résumer, en une composition pleine de vie et de sincérité, la scène des premières inoculations anti-charbonneuses.

Dans sa grandiose simplicité, cette minute émouvante est l'une des plus grandes dates de l'histoire de l'Humanité, car c'est elle qui a consacré le triomphe éclatant et définitif des découvertes de PASTEUR.

A travers toutes les vicissitudes qu'elle a subies et que le recul des siècles tend à réduire à la proportion de menus faits sans grande portée, l'Humanité nous apparaît comme un troupeau désemparé, livré sans défense aux épidémies mille fois plus meurtrières que les combats. Une fatalité cruelle la menace sans cesse : la vie est incertaine, le fléau peut fondre à l'improviste, décimant les empires, fauchant des villes entières, semant sur son passage la terreur, le deuil, la ruine. Comment lutter contre d'aussi redoutables désastres, puisqu'on en ignore la cause et la nature?

PASTEUR surgit : il décèle les infiniment petits, qui sont la cause de ces épouvantables hécatombes ; il découvre de quelle manière ils se propagent et, du même coup, comment on peut les éviter. Bien plus, il trouve le moyen de les rendre inoffensifs et, par le procédé des vaccinations préventives, de rendre réfractaires à leurs attaques insidieuses Hommes et Bêtes qui jusqu'alors leur payaient un si lourd tribut!

Les méthodes nouvelles, que son puissant génie a imaginées et qui le conduisent à de si merveilleux résultats, PASTEUR les applique d'abord aux animaux, et c'est sur le charbon ou sang-de-rate du Mouton qu'il opère. Mais il est déjà certain que ces mêmes méthodes sont applicables à l'Homme. Dès cette heure, on peut dire que les maladies infectieuses ont livré leur secret et que toutes, l'une après l'autre, seront vaincues par des procédés plus ou moins analogues. L'heure est proche, où ces maladies redoutables, qui étaient le pire fléau de l'Humanité, ne seront plus qu'un lugubre souvenir : l'âge d'or va naître enfin sur la terre et c'est à PASTEUR, j'allais presque dire au Bon Pasteur, que l'Humanité sera redevable de ce bienfait vraiment céleste.

J'avais donc raison de dire que la scène ciselée dans le bronze par l'habile burin du Professeur Paul RICHER marquait l'une des plus grandes dates de l'histoire des peuples; de toute l'histoire de la médecine et des sciences biologiques, il n'en est pas de plus glorieuse.

L'horizon du bas-relief représente exactement celui du champ où PASTEUR fit, en 1878, ses recherches sur la pathogénie du charbon : à gauche, le village et la ferme de Saint-Germain-la-Gâtine; à droite, à dix kilomètres vers le sud, la cathédrale de Chartres; entre ces deux points extrêmes, on voit la route de Saint-Germain à Chartres et, dans le lointain, le village de Petitvilliers. C'est dans ce champ à jamais célèbre que PASTEUR a reconnu que les Moutons s'inoculaient le charbon le plus souvent par la gorge, grâce aux Chardons mélangés à leur nourriture. C'est là encore qu'il a découvert le rôle des Vers de terre, qui rapportent à la surface du sol les spores de la Bactéridie enfouies dans la profondeur et créent ainsi les conditions favorables à l'infection.

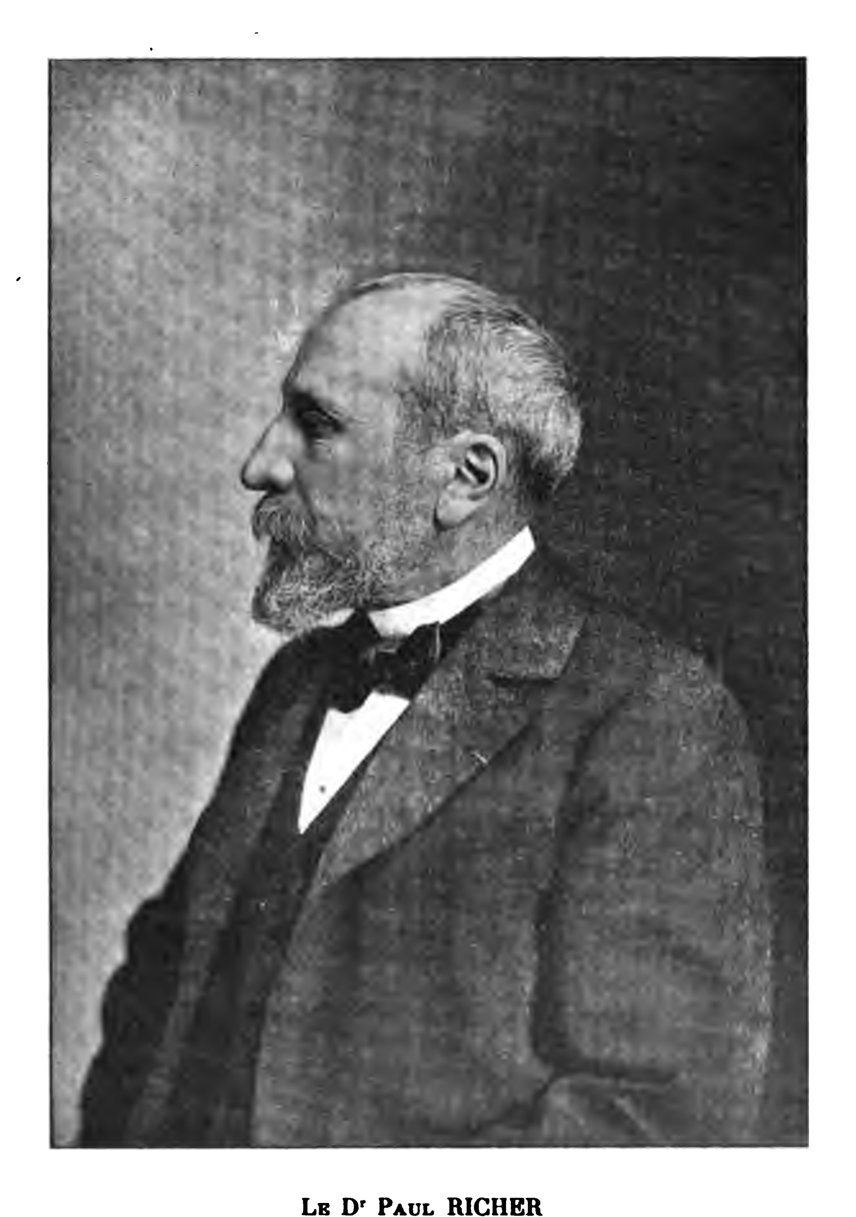
Par une fiction fréquemment adoptée par les artistes, le Professeur P. RICHER a voulu placer dans ce même paysage les démonstrations publiques qui ont eu lieu en réalité sur un autre théâtre, à la ferme de Lambert, au sud de Chartres, en 1881.

Ces démonstrations publiques, auxquelles PASTEUR n'a pas assisté, ont été faites par ROUX et CHAMBERLAND. Ils sont représentés tous les deux dans le bas-relief. Un valet de ferme, qui ne donne le portrait d'aucune des personnes alors présentes, tient un Mouton : le Dr ROUX, agenouillé au premier plan, se prépare à inoculer à ce dernier du sang pris directement sur un animal qui vient de mourir et dont CHAMBERLAND commence l'autopsie, dictant à un jeune élève ses observations.

Deux à trois cents personnes assistaient à ces expériences mémorables : c'étaient des médecins, des vétérinaires, des membres du Comice agricole, etc. RICHER n'a pu en représenter qu'un petit groupe : c'est tout d'abord, coiffé d'une casquette et vêtu d'une blouse, M. MAUNOURY, le propriétaire du champ et de la ferme de Saint-Germain-la-Gâtine; c'est aussi son frère, le Dr MAUNOURY, dont on n'aperçoit que le haut de la tête; c'est enfin le vétérinaire BOUTET, qui se tient le menton de la main droite. Le Dr MAUNOURY et BOUTET avaient leur place toute marquée en un pareil monument, car ils ont assisté aux expériences de PASTEUR et, déjà en 1850, ils avaient pris la part la plus active aux travaux par lesquels l'Association médicale d'Eure-et-Loir avait démontré la contagion du charbon. Quant au berger qui, de loin, assiste à l'inoculation, c'est celui-là même qui était à la ferme au moment où PASTEUR y travaillait.

Telle est la signification du beau monument élevé par la ville de Chartres à la gloire de PASTEUR. Il est surmonté d'un buste, également ciselé par le Professeur RICHER (pl. X).

La cérémonie d'inauguration était présidée par M. ROUJON, membre de l'Institut, directeur des Beaux-Arts. A ses côtés se tenaient le regretté Professeur NOCARD, délégué du Ministre de l'Agriculture; MM. BRELET,



Le Dr Paul RICHER

Professeur à l'Ecole des Beaux-Arts
Membre de l'Académie de médecine
Auteur du monument élevé à Pasteur par la ville de Chartres.

préfet d'Eure-et-Loir, et Fessard, maire de Chartres. Sur la tribune d'honneur avaient pris place les délégués de l'Institut, de l'Académie de médecine, de l'Institut Pasteur, de la Société de biologie, de la Société des Agriculteurs de France, les membres du Comité du momument, ainsi qu'un grand nombre de fonctionnaires, d'officiers de la garnison et de



La garde d'honneur du monument pendant la cérémonie d'inauguration.

notabilités de la ville de Chartres et du département. Mme Pasteur, M. et Mme Vallery-Radot et leurs enfants assistaient également à cette solennité, ainsi que le Professeur Paul Richer, auteur du monument.

Plusieurs discours ont été prononcés ; nous les reproduisons *in extenso*, à l'exception de celui de M. Roujon, qui fut improvisé et dont nous ne pouvons donner que de courts extraits.

DISCOURS DE M. CLICHY

Président du Comité du Monument.

Madame Pasteur,
Monsieur le Président,
Messieurs,

Vingt-deux ans se sont écoulés depuis le jour où, le 28 février 1881, aux applaudissements de ses collègues, Louis Pasteur faisait connaître à l'Académie des sciences les résultats probants de son immortelle découverte, qui peut figurer au nombre des plus belles conquêtes du siècle

dernier : la préservation du sang de rate par l'inoculation du germe de la maladie elle-même.

L'univers entier est venu rendre à l'illustre savant les hommages qui lui étaient si légitimement dus en s'associant à nos réjouissances nationales. Son nom doit désormais figurer sur la liste de ceux qui ont, dans toutes les branches, fait jaillir sur le nom français une renommée universelle?

Les découvertes de PASTEUR reposent sur des principes essentiellement propres à son génie. N'est-il pas le premier savant qui ait osé livrer aux infiniment petits un combat duquel il est toujours sorti vainqueur ! Cet Homme d'une volonté inébranlable était de ceux qui ne se ménagent pas : il ne considérait la vraie existence qu'en l'employant pour le bien-être de ses semblables !

Je n'entreprendrai pas, Messieurs, de suivre PASTEUR dans ses nombreuses découvertes ; seule, celle de la préservation du sang de rate fera l'objet de mon discours.

Louis PASTEUR n'appartenait pas à la chirurgie, à cette science qui fait tant de progrès de nos jours, qui dissèque chaque molécule d'un corps duquel elle retire le mauvais, pour, avec ce qui reste de bon, procurer quelque soulagement au malheureux patient. Il s'est servi des procédés qui lui appartiennent en propre : il préserve de la maladie par l'inoculation du germe de la maladie elle-même. C'est ce qu'a si bien rendu l'auteur de ce vers :

Arte nova, Pastor, ovium contagia vincit !

Désormais, grâce à cet art nouveau, nos troupeaux peuvent être affranchis du sang de rate.

Nous sommes ici, Messieurs, à une des glorieuses étapes de la vie scientifique de PASTEUR !

Le département d'Eure-et-Loir peut revendiquer à juste titre l'honneur de lui avoir vu faire ses premières études sur le charbon et la vaccination charbonneuse. C'est en effet, près de Chartres, à l'équarrissage de Sours qu'il vint en août 1877 pour étudier le microbe du charbon. Beaucoup de ceux qui sont ici présents, se souviennent encore que, le 10 août 1878, Louis PASTEUR, envoyé par le Ministre de l'agriculture et accompagné de ses fidèles collaborateurs, MM. CHAMBERLAND et ROUX, se rendit à Saint-Germain-la-Gâtine, chez M. MAUNOURY, pour examiner si le charbon *spontané* était produit par la Bactéridie, comme c'était un fait acquis en ce qui concerne le charbon artificiel.

C'est ce jour-là que notre regretté confrère Ernest BOUTET, alors secrétaire de notre Société, fit, en leur présence, l'autopsie d'un Mouton mort spontanément. Les résultats en ont été décrits dans un ouvrage qu'écrivit avec tant de talent M. CHAMBERLAND en 1883.

Que le nom du petit village de Saint-Germain-la-Gâtine soit à jamais gravé dans notre mémoire ! C'est un nom prédestiné, car c'est là qu'eurent lieu les expériences d'une des plus grandes découvertes qui honorent le nom et la science du peuple français ! Je ne parle ici que pour mention des

expériences de Pouilly-le-Fort, de Fresnes, d'Artenay et autres localités qui sont toutes de glorieuses étapes dans la vie de cet illustre savant!

Permettez-moi cependant de vous parler des expériences toutes locales qui eurent lieu à la ferme de Lambert : nos jeunes compatriotes seront heureux de connaître les travaux de PASTEUR dans leur pays d'origine :

Le département d'Eure-et-Loir, qui a la triste réputation d'être la terre classique du sang charbonneux et qui avait été le siège des premières recherches de PASTEUR, ne pouvait pas rester insouciant à la découverte de l'illustre savant.

Dans sa séance du 27 avril 1881, le Conseil général, à la demande des médecins et des vétérinaires d'Eure-et-Loir, invitait M. Paul FLORET, alors préfet, à former une commission d'études expérimentales et accordait un crédit pour subvenir aux dépenses.

Huit jours après, cette commission arrêtait son programme, et, le 16 juillet, se rendait à la ferme de Lambert, commune de Barjouville, où elle avait fait réunir, dans un pré, seize Moutons du pays et dix-neuf pris dans le troupeau d'Alfort et que PASTEUR avait préalablement vaccinés. On transporta sur le champ d'expériences un Mouton mort, à 6 heures du matin, chez un cultivateur du voisinage. Tous les Moutons furent tour à tour inoculés avec une dizaine de gouttes de sang charbonneux. Le surlendemain, la commission retournait à Lambert où les trente-cinq Moutons inoculés se trouvaient toujours dans le même pré. Pas un Mouton d'Alfort n'avait succombé ni ne se trouvait indisposé, tandis que, dans le lot des Moutons beaucerons, dix étaient morts et plusieurs étaient tristes et abattus.

En présence de nombreux médecins et vétérinaires des environs, en présence de M. ROUX, l'aide de PASTEUR, de M. le préfet, du secrétaire général, de M. BOISSARD, conseiller de préfecture, du Conseil général, du Conseil d'arrondissement et d'un assez grand nombre de cultivateurs, on procéda à l'autopsie des dix bêtes. Toutes étaient mortes du charbon. Pendant l'autopsie deux autres mouraient du sang de rate. Enfin le 19, quatre succombaient à leur tour. Un seul a survécu.

Les moutons d'Alfort en sortirent indemnes et insouciants du danger qu'ils avaient couru. M. Daniel BOUTET, de si regrettée mémoire, en lut le rapport à l'Académie de médecine, le 26 juillet du même mois. Ça lui appartenait d'autant plus qu'il était alors un des rares vétérinaires qui en fût un des membres correspondants. Vétérinaires d'Eure-et-Loir, soyons fiers de l'avoir eu comme confrère, et rendons à sa mémoire un hommage dont sauront se souvenir ceux qui l'ont connu et su l'apprécier!

Pendant le cours de cette même année, pénétré des expériences de LAMBERT, un cultivateur de ma clientèle. qui perdait considérablement de bêtes à laine, puisqu'en onze ans, sur un effectif annuel de 400 moutons, il en avait perdu 1.190, soit une moyenne de 108 par an, me pria de faire vacciner une partie de son troupeau. Or, en la ferme de Bossainville, commune de Santilly, les 28 juillet et 9 août, en présence de nombreux

médecins, vétérinaires et cultivateurs, M. CHAMBERLAND procéda à l'opération de la vaccination. La moitié du troupeau reçut les deux vaccins : seules trois bêtes moururent, tandis que, chez les non vaccinés, il y eut trente-quatre décès. Je crois être ici l'interprète de tous, en adressant nos plus sincères félicitations à tous ceux qui n'ont pas craint, pour ces diverses expériences, de soumettre à la vaccination pasteurienne les bêtes qu'ils possédaient, abjurant tous les préjugés qui pouvaient encore exister !

Vous savez tous, messieurs, qu'en 1885 l'emplacement du laboratoire de la rue d'Ulm devint insuffisant sous tous les rapports. Et voilà pourquoi, reconnaissante de tant de bienfaits, la France, dans un mouvement spontané, faisait à Louis Pasteur, par souscription nationale, don d'un palais scientifique, sans rival dans le monde entier et qui fut inauguré en novembre 1888. C'est là que les disciples continuent et appliquent les immortelles découvertes du maître ! Saluons, messieurs, ces héros de la science et ces bienfaiteurs de l'humanité ! C'est de là que, de temps à autre, partent de jeunes savants qui vont, à travers le monde, installer de nouveaux laboratoires !

Mais, le 29 septembre 1895, on apprenait avec stupeur que la mort venait de nous ravir cet homme de bien, le plus célèbre des conquérants scientifiques qui, malgré ses 73 ans, paraissait destiné à vivre longtemps encore ! Diverses légations étrangères se sont jointes à la France pour adresser un dernier hommage à celui qui jouissait de l'estime universelle. De tous côtés des souscriptions se sont ouvertes pour élever des monuments en souvenir du grand savant qui n'était plus.

Les Sociétés médicale et vétérinaire d'Eure-et-Loir, auxquelles s'étaient jointes celles des pharmaciens et les comices agricoles, voulurent élever à l'immortel PASTEUR un buste qui perpétuât à jamais parmi nous et son image et sa mémoire ! Le département, le Conseil général, les Conseils d'arrondissement, les communes et les souscriptions privées nous vinrent alors en aide, ainsi qu'une subvention qu'a bien voulu nous accorder M. le directeur des Beaux-Arts, dont je suis heureux de pouvoir aujourd'hui lui adresser nos plus sincères remerciements. Au nom de tous, je les remercie. Aujourd'hui c'est un fait accompli, et nous sommes heureux de pouvoir l'inaugurer, nous qui avons été les premiers témoins de ses immortelles découvertes. Il revenait à la ville de Chartres de posséder ce précieux dépôt. Du centre du département, le nom de Louis PASTEUR rayonnera jusque dans les hameaux les plus éloignés ! A la ville comme à la campagne, ses découvertes feront l'objet de toutes les conversations, et l'on dira avec orgueil que l'on est fier d'avoir possédé en France un pareil savant !

Je ne puis passer sous silence le nom du jeune Chartrain, M. le Dr Paul RICHER, qui joint à sa science médicale celle aussi importante de la sculpture, qui nous a prêté son talent et le concours de son ciseau pour la conception et l'exécution du buste de PASTEUR et du haut-relief du monument. Il n'a pas voulu que l'on confiât à d'autres qu'à un Beauceron

le soin de représenter par le marbre la figure du maître et les diverses expérimentations de vaccine qui eurent lieu dans notre département. Je crois être ici l'interprète de tous en lui adressant l'hommage de notre sincère reconnaissance pour la création toute locale des différentes scènes qu'il a reproduites.

Il nous conduit à Saint-Germain-la-Gâtine, dans cette riante plaine beauceronne qui s'étend à perte de vue et que domine notre belle cathédrale, un des chefs-d'œuvre de l'art gothique. Vous y verrez gravées sur le haut-relief, les figures du Dr Chamberland, du Dr Roux, célèbre aujourd'hui par sa découverte du vaccin de la diphtérie, de notre regretté confrère M. Daniel Boutet et celle de M. Maunoury, cultivateur de la ferme, principaux instigateurs des expériences. Leurs noms vivront éternellement parmi nous, nos descendants seront heureux de pouvoir contempler leurs traits, et ils les salueront avec tout le respect qui est dû à la mémoire de tels hommes.

Monsieur le Maire : Au nom des médecins, au nom des vétérinaires, au nom des pharmaciens, au nom des comices agricoles, au nom de tous les syndicats d'Eure-et-Loir, au nom de tous ceux qui ont participé à son érection, j'ai l'honneur de confier à la sauvegarde de la Ville de Chartres, le monument élevé à la mémoire de Louis Pasteur. Nous sommes tous persuadés que les traits qu'il représente, ainsi que le grand savant qu'il honore le feront toujours respecter, et que l'administration municipale sera, pour sa conservation, d'une constante sollicitude !

DISCOURS DE M. FESSARD

Maire de Chartres.

Messieurs,

Aux maîtres illustres, venus à cette solennité, il appartient de dire ce que furent les travaux de Pasteur et les précieuses découvertes dont il enrichit la science : les sources des maladies infectieuses reconnues, une méthode créée de toutes pièces pour les combattre victorieusement, du même coup les règles de l'hygiène renouvelées, et comme résultats les épidémies condamnées à disparaître successivement, et l'occident désormais affranchi des fléaux que périodiquement lui transmettaient les pays d'orient.

Pour nous, profane, saisi d'admiration devant une telle œuvre, il nous sied de nous incliner avec humilité devant cette grande ombre, certain de ne pouvoir jamais témoigner à une telle mémoire ni assez de respect ni assez de reconnaissance; si le monde, en effet, avait vraiment conscience des bienfaits dont l'humanité est redevable à Pasteur, ce n'est pas seulement sur les places publiques de nos grandes villes que devrait être exposée son image, ce n'est pas uniquement au marbre et à l'airain que devraient être confiés ses traits, c'est au foyer domestique de nos demeures, somptueuses ou misérables, que sa noble figure, faite d'or ou de plâtre,

devrait avoir sa place marquée, à côté des symboles les plus vénérés de la famille.

En attendant l'éclosion de ce culte universel, que nous croyons dû au nom de Pasteur, réjouissons-nous, toutes les fois que de généreuses initiatives provoquent la gratitude humaine et donnent naissance à une œuvre nouvelle destinée à exalter sa gloire et à la rendre impérissable.

Ici, l'hommage rendu à Pasteur a revêtu la forme qui s'allie, sans doute au plus haut degré de perfection, avec le caractère et les vertus de celui qu'il s'agit de glorifier, parce que l'auteur de ce monument a compris que pour honorer Pasteur, de la façon dont il lui eût plu de l'être, ce n'est pas dans une apothéose, contre laquelle sa modestie se fût révoltée, qu'il fallait le représenter, mais bien inspirant de son génie, dans le présent et à travers les âges, ses disciples, pour les conduire toujours plus loin dans le chemin de la vérité scientifique.

Soyons fiers, enfants de la Beauce, que dans notre contrée Pasteur ait rencontré les Hommes intelligents, convaincus et dévoués, dont nous sommes heureux de retrouver les traits sur ce bronze, pour l'aider à faire ses expériences les plus décisives, auxquelles nous fait assister la scène si vivante reproduite sous nos yeux. Soyons fiers, enfants de cette ville, de compter au nombre de nos compatriotes le savant éminent, l'Homme de cœur et de talent, qui, en édifiant ce monument digne de tous les suffrages, a écrit une page magistrale de l'histoire de la Science, et a bien mérité à la fois de son illustre maître et de son pays natal. Soyons fiers aussi que, de tous les points de ce pays, nos concitoyens aient entendu l'appel qui leur a été fait par nos plus distingués praticiens, pour contribuer à l'érection de cette œuvre, mais souvenons-nous aussi que, pour la seconde fois, le gouvernement est généreusement venu à notre aide, et prouvons notre gratitude, en la témoignant devant le très distingué directeur des Beaux-Arts, qui a bien voulu nous faire le très grand honneur de présider cette solennité.

Messieurs du Comité, au nom de la Ville de Chartres, nous acceptons le précieux don que vous lui faites, et je ne saurais mieux vous en remercier ni plus m'associer à vos sentiments, qu'en proclamant :

Gloire à Pasteur ! Honneur au Dr Paul Richer !

DISCOURS DU PROFESSEUR NOCARD

Délégué du Ministre de l'Agriculture.

Messieurs,

Le 27 décembre 1892, une foule innombrable s'entassait dans le grand amphithéâtre de la Sorbonne, pour célébrer, dans une fête inoubliable, ce qu'on a appelé le *Jubilé de Pasteur* : à l'occasion de son 70e anniversaire, des savants, des médecins, des vétérinaires, des agriculteurs, des industriels venaient de tous les pays du monde lui apporter le témoignage de

l'admiration et de la reconnaissance universelles. Ce jour-là, on a pu dire de PASTEUR que lui aussi « était entré vivant dans l'immortalité ».

Trois ans plus tard, la France, par son gouvernement, Paris, par sa population tout entière, faisaient à PASTEUR d'admirables funérailles et ce jour-là encore, l'on a senti battre à l'unisson le cœur des grands et des humbles, des riches et des pauvres, des savants et des ignorants.



A B C D E F

LE PROFESSEUR NOCARD LISANT SON DISCOURS.

A, M. FESSARD, maire de Chartres. — B, M. CHAMBERLAND. — C, M. le Professeur CHAUVEAU. — D, M. BRELET, Préfet d'Eure-et-Loir. — E, M. ROUJON, Directeur des Beaux-Arts. — F, le Professeur NOCARD.

Depuis, partout se sont élevés ou vont s'élever des monuments qui « rediront sa gloire à la postérité ».

C'était hier à Alais, à Melun, à Buenos-Aires, à Lille, à Arbois, à Dole ; c'est aujourd'hui à Chartres ; ce sera demain à Marnes, puis à Paris, ailleurs encore !

Il n'y a pas d'autre exemple d'un savant dont l'œuvre ait fait aussi rapidement la conquête de l'Université scientifique; il n'y en a pas surtout qui ait été aussi réellement, aussi universellement populaire.

Si PASTEUR a si profondément remué l'âme de la foule, c'est qu'il n'avait pas seulement la passion de la recherche scientifique, il avait aussi au plus haut degré le souci de l'application de ses découvertes, dans l'espoir de contribuer à la prospérité de son pays et surtout de soulager les misères humaines. C'est ainsi que, par ses travaux sur les fermentations, sur les maladies du vin et de la bière, sur les maladies des Vers à soie, sur les maladies des animaux, il a relevé nombre d'industries chancelantes, sauvé de la misère des milliers d'agriculteurs, ramené la prospérité dans des régions entières menacées de la ruine.

C'est ainsi surtout qu'il a été conduit à appliquer à l'étude des maladies de l'Homme, — avec quel succès ! — les doctrines et les méthodes qui lui avaient permis d'élucider tant de problèmes jusque-là déclarés insolubles.

Messieurs, c'est l'agriculture qui a, la première et le plus largement, bénéficié des admirables découvertes de PASTEUR. Aussi M. le Ministre de l'Agriculture se serait-il fait un devoir d'assister à votre fête, si des engagements antérieurs ne l'obligeaient à présider aujourd'hui même la distribution des récompenses au concours régional de Chaumont; mais il m'a chargé de vous présenter tous ses regrets et d'associer étroitement son administration à l'hommage de reconnaissance et d'admiration que la Beauce rend aujourd'hui au vainqueur du charbon, au sauveur de ses troupeaux.

Messieurs, il ne m'appartient pas de dire tout ce que l'histoire du charbon conservait d'obscur, de troublant et d'incompréhensible, à l'époque où PASTEUR et ses élèves abordaient son étude. Je veux rappeler seulement que c'est ici même, en plein pays chartrain, au milieu des troupeaux charbonneux, avec le concours empressé des vétérinaires et des fermiers beaucerons, qu'ils ont élucidé d'une façon si lumineuse les mystères de l'étiologie du charbon. Ce chapitre de leur œuvre est admirable d'ingéniosité et de clarté ; il restera comme un modèle difficilement imitable.

Vous avez eu raison, Messieurs, d'en vouloir perpétuer le souvenir ; car jamais jusqu'alors recherche médicale n'avait réalisé une semblable perfection dans les expériences, une pareille rigueur dans les déductions, une telle sûreté dans les applications.

Que vous dirai-je de la vaccination, qui ne soit encore présent à toutes les mémoires ? Ceux d'entre vous qui n'ont pas assisté à la mémorable expérience de Pouilly-le-Fort, n'ont sans doute pas oublié celle que dirigea ici-même notre distingué et regretté confrère, M. BOUTET, et dont le succès fut tout aussi complet, tout aussi éclatant ! Chacun de vous sait que, depuis lors, la vaccination anticharbonneuse a fait le tour du monde ; que, partout où on l'applique, le charbon disparaît et, avec lui, la pustule maligne qui, naguère encore, faisait tant de victimes dans tous les pays à charbon. Nul n'ignore enfin que c'est par millions de têtes de bétail que se chiffrent les bénéfices de l'opération !

Mais ce que je tiens à proclamer, c'est que ces résultats pratiques, déjà si beaux, sont le moindre mérite des vaccinations pasteuriennes. Leur portée est bien plus haute ! Elles marquent une *date* dans l'histoire de la médecine, c'est la fin de l'âge héroïque de la bactériologie ; c'est le triomphe définitif des doctrines nouvelles ; désormais la preuve est faite, et d'une façon indiscutable, de la valeur des méthodes pasteuriennes ; les détracteurs sont hors de combat ; les hésitants, — c'était le plus grand nombre ! — entraînés par l'enthousiasme universel, s'en vont grossir le petit bataillon des amis de la première heure et le transformer en armée ! Désormais on va pouvoir travailler en paix, creuser à fond tous les sillons que le *maître* a tracés et se préparer pour la moisson de découvertes dont il a si prodigalement jeté la semence à tous les vents.

Dès lors, en effet, on n'hésite plus à appliquer à l'étude des maladies de l'Homme les méthodes qui ont donné de si magnifiques résultats dans l'étude des maladies des animaux et bientôt les découvertes se succèdent et se précipitent, si nombreuses qu'on pourrait à peine les énumérer, si fécondes qu'elles ont révolutionné la médecine et l'hygiène, si bienfaisantes qu'elles ont dépassé toutes les espérances !

Cet incomparable mouvement scientifique n'est pas près de se ralentir, car les disciples de Pasteur sont aujourd'hui légion ; ils ont conquis le monde et l'Institut Pasteur, que la reconnaissance publique a élevé à la gloire du *maître*, et qui fait tant d'honneur à la France, est resté entre les mains de ses élèves directs, de ceux qu'il a initiés à ses méthodes, qu'il a imprégnés de son esprit et qui n'ont, comme lui, qu'une passion : le culte de la science et l'amour de la patrie !

DISCOURS DU PROFESSEUR CHAUVEAU

Délégué de l'Institut.

Messieurs,

Le monument que nous inaugurons aujourd'hui est consacré à la commémoration d'une des plus fécondes et des plus utiles applications des travaux de Pasteur sur les maladies et les agents infectieux. Elles deviennent légion, ces applications pratiques. Chaque jour croissent en nombre et en importance les bienfaits qu'on en tire, les beaux résultats qu'on en obtient pour la conservation de la santé de l'Homme et des animaux, sans compter les services rendus à la production végétale, par la détermination des infiniment petits, bienfaisants ou malfaisants, qui préparent l'assimilation des aliments des plantes et jouent un rôle si considérable dans le mécanisme de leur édification ou dans l'évolution des affections pathologiques qui les atteignent.

Mais la lutte contre les maladies charbonneuses compte au nombre des applications qui appartiennent à Pasteur lui-même ; c'est une de celles qui ont inauguré la pénétration du domaine de la prophylaxie des maladies contagieuses par les conquêtes de la bactériologie.

Maladies contagieuses : ces mots ont pour ainsi dire leur exact équivalent dans ceux de *maladies évitables*, maladies dont l'explosion peut être conjurée par l'emploi de moyens prophylactiques adaptés à l'action défensive qu'il convient de faire intervenir contre elles. Le charbon, à la propagation duquel PASTEUR a opposé la méthode de vaccination préservatrice que nous glorifions aujourd'hui, se range donc dans ces maladies dites évitables précisément parce qu'elles sont contagieuses.

On ne l'a pas toujours cru. Sur les bancs de l'école, il m'était enseigné que le sang de rate, c'est-à-dire la fièvre charbonneuse, était l'effet d'une pléthore sanguine et qu'une des conditions les plus sûres, pour un Mouton, de devenir charbonneux, c'était d'être jeune, vigoureux, bien nourri, en un mot en état de santé parfaite! Et c'était un maître de tout premier ordre qui nous donnait cet enseignement! Rien moins que DELAFOND! Plus tard, il a bien pris sa revanche, avec sa très belle étude de l'évolution du bâtonnet charbonneux! Mais, en attendant, l'opinion de la nature pléthorique du sang de rate avait fait son chemin... et ses victimes. En Brie, en Beauce, on ne croyait plus guère à la nature infectieuse des diverses maladies charbonneuses. Du reste, elle était bien floue l'idée que les agriculteurs, les vétérinaires, les médecins se faisaient de l'existence d'un contagium spécifique, cause des explosions de sang de rate. Aucune précaution n'était prise pour empêcher la dissémination et l'inoculation de ce germe. Combien en ai-je vu abattre et habiller pour la boucherie de ces animaux, Moutons ou Bœufs, sur lesquels les propriétaires saisissaient à temps les premiers signes de la maladie! Et les viandes ainsi préparées s'en allaient se faire acheter sur les étaux de la province ou sur ceux de la capitale elle-même! Et quand c'étaient des novices qui avaient joué le rôle de sacrificateurs maladroits, combien de fois chez eux les piqûres ou coupures accidentelles n'ont-elles pas inoculé la pustule maligne, toujours très grave et bien souvent mortelle!

Et ceci se passait même dans le département d'Eure-et-Loir, dans cette région chartraine, où la croyance à la contagiosité du sang de rate ne s'était jamais complètement éclipsée! Les lointains souvenirs de ma prime jeunesse me le rappellent en ce moment avec une curieuse vivacité. Par exemple, ils replacent devant mes yeux le Beauceron GARREAU plaidant à Paris, devant la Société centrale de médecine vétérinaire, la nature infectieuse du sang de rate. Avec quel ardeur et quel entrain? Il était facile d'en juger à l'excitation de la combativité des rudes adversaires auxquels il s'adressait.

Mais l'évocation du temps passé me remet en mémoire une autre phase, autrement glorieuse pour le pays chartrain, de cette lutte entre les adversaires et les partisans de la contagiosité du sang de rate. Pourquoi tant discuter, en effet, autour d'une question qui, par sa nature, appartient à la catégorie de celles qu'il est possible de résoudre expérimentalement? Vous désirez savoir si la fièvre charbonneuse et la pustule maligne sont des maladies transmissibles : eh bien, prenez les humeurs malades de

sujets atteints et inoculez ces humeurs par tel procédé que vous voudrez à des sujets parfaitement sains. Il vous sera facile de voir si ceux-ci prennent ou non la maladie; ce qui vous permettra d'affirmer ou de nier la virulence des humeurs employées, d'affirmer ou de nier que le sang de rate est une maladie infectieuse.

Ce critérium de la contagiosité de la fièvre charbonneuse avait déjà été avantageusement exploité en France par Barthélemy aîné, puis en Allemagne par d'autres expérimentateurs également de grande valeur. Mais les résultats positifs constatés dans ces intéressantes recherches n'entraînèrent pas la conviction universelle. L'indécision continua à planer sur la solution du problème de la virulence ou de la non virulence de la fièvre charbonneuse.

C'est alors qu'intervinrent les expériences si connues de l'Association médicale et de la Société vétérinaire d'Eure-et-Loir. Les détails de cette féconde campagne d'études nouvelles offrent le plus vif intérêt. Mais à quoi bon les rappeler? Est-ce ici qu'on peut les avoir oubliées? Contentons-nous de proclamer hautement que les résultats en furent singulièrement instructifs. Ils apprenaient au public médico-vétérinaire, d'une manière certaine et définitive, qu'il n'y avait plus à douter de la contagiosité de la maladie charbonneuse, ni de son identité dans toutes les espèces animales qui y sont communément exposées, le Mouton, le Bœuf, le Cheval, l'Homme : sang de rate des Ruminants, fièvre charbonneuse des Équidés, pustule maligne de l'être humain, toutes ces manifestations morbides s'engendrent sous l'action du même contagium, peuvent dériver les uns des autres et ne forment qu'une seule et même espèce pathologique.

Ce fut là un grand progrès imprimé à la connaissance des maladies charbonneuses. J'aurais voulu relire le rapport si intéressant que Boutet a rédigé sur les travaux de la commission et où l'histoire de ce progrès se trouve consignée. Mais j'ai été pris de court quand on m'a imposé tout à fait à l'improviste le devoir de parler ici au nom de l'Institut de France et de la Société de biologie. A peine ai-je eu le temps d'écrire ces notes rapides au courant de la plume sans avoir pu me documenter à nouveau sur la part qui revient à chacun dans la collaboration des membres des deux sociétés. Mais ce dont je suis bien sûr, ce qui est resté profondément gravé dans mon esprit, c'est l'impression de profonde satisfaction qu'au beau temps de ma jeunesse j'ai éprouvée à la lecture du rapport de Boutet. Avec la même vivacité qu'au premier jour, je ressens encore les sentiments de très haute estime que j'éprouvais alors pour la commission d'Eure-et-Loir et pour son historiographe.

Les maladies charbonneuses sont donc des maladies à contagium, donc des maladies évitables. Alors Pasteur est autorisé à refaire, avec le charbon du bétail de la ferme, ce qu'il a heureusement tenté une première fois avec le choléra des Poules : créer, pour lutter contre la propagation du charbon, un agent et une méthode de préservation rappelant le vaccin et la vaccination employés par Jenner contre l'infection variolique.

Toussaint, qui avait été un précurseur, s'était arrêté à mi-chemin. Pasteur, lui, franchit sans hésitation tous les obstacles qui le séparaient du but, et il l'atteint avec la plus grande rapidité.

L'histoire de cette conquête nouvelle a été écrite bien souvent. Je ne la referai point encore une fois, après son premier et son plus brillant vulgarisateur, Henri Boulay. Il se fit l'un des plus fervents et des plus enthousiastes apôtres du nouveau messie, et il sut grouper autour de lui tous ses modestes confrères praticiens, ceux d'Eure-et-Loir au premier rang. Alors que bien des grands maîtres de la science médicale se réservaient encore ou se trouvaient même franchement hostiles à l'idée nouvelle, ces humbles, à instincts divinatoires plus avisés, offraient à Pasteur et à ses élèves Roux et Chamberland leur utile collaboration. Elle permettait d'inaugurer à Pouilly-le-Fort la première grande expérience de démonstration publique. Et cette démonstration, grâce à ces braves ouvriers de la première heure, se poursuivait dans le riche pays de Beauce par l'application en grand de la vaccination pasteurienne, sur le cheptel beauceron.

Avec quel succès ! Ce n'est plus à dire ! La Beauce, qui avait tant souffert du charbon dans le passé, ne connaît plus guère la décimation de ses troupeaux par le sang de rate et a vu disparaître la pustule maligne !

Aussi a-t-elle voulu traduire sa reconnaissance par un monument durable élevé à la mémoire du glorieux maître. L'exécution en a été confiée au talent d'un enfant du pays chartrain, un des enfants qui lui font le plus d'honneur. La main habile du docteur Paul Richer, conduite par la double pensée de l'artiste et du médecin, a rendu avec le plus grand bonheur la scène de la première inoculation préventive pratiquée dans la campagne beauceronne. Le vétérinaire Boutet et le chirurgien Maunoury y figurent. C'est justice ; il convenait de reconnaître les services qu'ils ont rendus en préparant, par leurs travaux, l'introduction, dans leur pays, de la vaccination anticharbonneuse. Pasteur, en buste, domine la scène et il la domine de haut comme il convient à un génie de son envergure.

En appelant *vaccin* ses virus atténués, il a voulu se rattacher à Jenner. Il a bien fait. Les méthodes d'inoculation préventive sont variées et peuvent comporter l'emploi, soit d'humeurs qui ne *renferment* aucun microbe infectant, atténué ou non, soit de liquides culturaux ou autres contenant des agents virulents pourvus de toute leur activité malfaisante. Pasteur, lui, s'attache surtout à l'utilisation des virus atténués, grâce à leur variabilité. Certes la question de la variabilité de l'agent infectant était déjà posée avant lui, et, après lui, elle a pris un développement un peu imprévu. Mais ce sont les études propres de Pasteur qui ont ouvert. sur cette question, les plus vastes horizons dans le domaine des grandes lois de la biologie générale.

Demain les bienfaits matériels que nous devons à l'application pratique de ces belles recherches deviendront peut-être inutiles. Il n'est pas

déraisonnable, en effet, d'imaginer tel régime de police sanitaire qui procurerait à l'humanité la disparition complète des maladies infectieuses. A cet instant il ne serait plus besoin d'inoculation préventive ou de vaccination. Mais le monument qui se dresse devant nous n'en conservera pas moins toute sa raison d'être, toute son actualité. Il dira à nos arrière-petits-neveux, la grandeur des conceptions purement scientifiques de PASTEUR, et c'est de cette grandeur que nous avons surtout à lui être reconnaissant.

Être créateur d'améliorations des conditions matérielles de la vie humaine, c'est bien. Être créateur de vérité n'est-ce pas encore mieux? PASTEUR a contribué à nous préserver de grands maux : qu'il en soit chaleureusement remercié ! PASTEUR nous a aidés à comprendre de grandes choses et de grands faits restés jusqu'à lui profondément obscurs : honneur et gloire à notre illustre PASTEUR !

Hier, sous la coupole de l'Institut, un grand poète dramatique, dans un beau plaidoyer *pro domo suâ*, parlait d'une baie qui, « sous l'émouvant frisson d'un voile qui s'envole, s'ouvre sur des villes ou sur des forêts, sur l'Histoire ou sur la Fable, sur la chambre d'une vie ou la clairière d'un songe ». Il plaignait ceux à qui « la débilité de leur imagination ne peut plus offrir qu'une moitié d'illusion » devant l'artificiel spectacle. Je suis de ceux à qui l'illusion totale est permise. Aucun effort ne m'est nécessaire pour vivre dans la réalité du drame figuré sous mes yeux. Qu'on me représente de grandes joies ou de grandes douleurs, de beaux héroïsmes ou d'exécrables crimes, des assauts de nobles sentiments ou de fines ironies ou de belles délicatesses, si l'expression littéraire est adéquate à son objet, j'en goûte toute la poésie et je me laisse prendre absolument par elle.

Mais la grandeur de mon émotion poétique, je veux dire l'harmonie des sentiments satisfaits qu'éprouve mon entendement, est autrement empoignante devant un voile qui se soulève en découvrant des vérités scientifiques jusqu'alors profondément cachées. Ces vérités, ce sont les lois simples qui régissent les phénomènes de la vie individuelle ou de la vie mondiale. Pour se parer de tout leur éclat elles n'ont besoin de l'artifice d'aucun décor. Leur propre splendeur les illumine et les nimbe d'une superbe auréole. Qu'il est beau de les voir apparaître ainsi dans le splendide éclairement qu'elles produisent autour d'elles !

Au grand poète que fut PASTEUR nous avons dû souvent la noble jouissance de contempler cette idéale beauté de la vérité, substituant tout à coup son éclatante lumière à la nuit profonde de l'ignorance. La dette de reconnaissance que les contemporains de PASTEUR ont contractée ainsi envers sa mémoire ne sera jamais payée par la postérité.

DISCOURS DU PROFESSEUR PROUST

Délégué de l'Académie de Médecine.

Messieurs.

Dans cette ville de Chartres où toutes les époques sont en quelque sorte superposées, depuis la crypte dite de la Vierge-Noire qui n'est autre que l'antique sanctuaire des Carnutes où venaient prier les druides, jusqu'à sa cathédrale qui dresse au milieu des plaines de la Beauce l'encyclopédie sculptée du moyen âge, vous avez voulu que notre âge, lui aussi, laissât, si modeste fût-elle, une trace de son œuvre, et comme un témoignage de sa foi. Vous n'avez pas voulu prétendre au monument à quelques pas d'un monument dont la beauté n'avait pas été atteinte avant lui et ne le sera vraisemblablement jamais, mais vous avez pourtant voulu accomplir une juste commémoration. Vous n'y pouviez mieux réussir que par cette composition charmante, émue et profonde et deux fois savante, pourrait-on dire, par l'art du savant qui l'a conçue, par la science de l'artiste qui l'a réalisée. Le souvenir qu'elle doit fixer, l'événement qu'elle relate, il en est peu d'aussi grands. Car si vous voulez bien y songer, c'est ici sur ces champs mêmes de Chartres, que fut remportée l'une des plus grandes victoires de la science moderne, une des plus grandes victoires sans larmes, qui assurent pacifiquement à l'humanité des conquêtes définitives. C'est ici même que Pasteur fit une découverte dont la vérité plus grande en quelque sorte que l'objet auquel elle s'applique, s'étendit immédiatement des animaux dont les affections charbonneuses préoccupaient seulement les agriculteurs à toute l'humanité souffrante, qui n'est pas, hélas ! devenue l'humanité guérie, mais l'humanité au moins chaque jour de plus en plus épargnée.

Et plus qu'une autre devait s'y associer notre Académie à laquelle Pasteur ne manquait jamais de venir apporter le bulletin de ses travaux, ses bulletins de victoire. Il communiquait ces notes mémorables qui marquaient en traits ineffaçables tous les progrès accomplis dans l'étude du charbon.

A l'heure actuelle, nous ne voyons plus que les résultats acquis. C'est à peine si nous avons conservé le souvenir des obstacles franchis, des combats acharnés que Pasteur a dû livrer à chaque pas fait en avant dans la voie nouvelle. Il y a lieu d'insister sur la révolution accomplie en médecine à la suite de ses travaux sur le charbon où l'on trouve en germe tous les progrès réalisés depuis, dans toutes les branches des sciences médicales. Pasteur nous a appris qu'il n'y a point de maladie infectieuse naissant par génération spontanée. Voilà le point fondamental. Sans doute, de tout temps, on a eu une tendance marquée à attribuer l'origine des maladies infectieuses à un contage animé, à des organismes inférieurs, vivant en parasites chez les sujets infectés.

La découverte des Infusoires par Leeuwenhoek parut donner une base

sérieuse à ces simples vues de l'esprit, et la doctrine parasitaire fut acceptée sans restriction par KIRCHER, LANCISÉ, RÉAUMUR et LINNÉ. Cette doctrine était presque totalement tombée dans le discrédit quand les belles recherches de PASTEUR sur les fermentations vinrent introduire dans le problème un élément nouveau et décisif. Il démontra que l'air atmosphérique est le réceptacle d'une infinité de germes vivants qui, par leur prolifération et leur multiplication si actives déterminent des phénomènes de fermentation et de putréfaction.

De là à l'idée que les maladies infectieuses et contagieuses de l'Homme ne sont elles-mêmes que des zymoses, il n'y avait qu'un pas. Nous savons que le choléra ne peut dériver que d'un germe cholérique, que la peste ne provient jamais que de la peste, que la fièvre jaune demande toujours l'importation de la fièvre jaune. Maintenant que nous n'acceptons plus l'origine banale de toutes ces maladies, maintenant que nous nous appuyons sur ces notions précises de spécificité, nous savons mieux prévenir ces maladies et nous opposer à leur propagation. D'autre part, sans la détermination des microbes pathogènes, la sérothérapie n'aurait pas vu le jour. La découverte des virus atténués et de leur utilisation pour la vaccination de la rage, du charbon, etc., montrent la part initiatrice de PASTEUR dans cette thérapeutique nouvelle qu'ont enfantée ses doctrines.

Nous avons tous lu, Messieurs, les récits de la peste du moyen-âge qui, en six ou sept ans, enleva à l'Europe vingt-quatre millions d'individus, le quart ou le tiers de sa population probable. En Italie et particulièrement à Florence où les soupçons de la peste propagée par maléfice prirent une si grande extension, des comités se formèrent pour dénoncer les coupables imaginaires auxquels des juges eurent la cruauté d'infliger des tortures. Or, nous avons pu voir, en 1898, la peste importée à Vienne, au centre de l'Europe, dans un hôpital renfermant plus de mille malades, immédiatement localisée, ne faire que deux ou trois victimes. Ce brusque arrêt d'une épidémie naissante est la conséquence directe des travaux de PASTEUR.

Et le bienfait de cette découverte est partout à la base de chaque partie de la médecine, depuis le diagnostic même du clinicien, pour qui aujourd'hui un échantillon des produits d'expectoration du malade suffit à affirmer la tuberculose, ou quelques particules de matières, à reconnaître qu'il est atteint de choléra ; jusqu'à l'hygiène sanitaire qui a pu substituer, grâce à lui, aux prescriptions draconiennes d'autrefois, des mesures à la fois plus efficaces et plus clémentes.

Mais j'évoquais tout à l'heure devant vous le souvenir de cette encyclopédie peinte et sculptée du moyen âge qui est la cathédrale de la belle ville qui nous reçoit aujourd'hui. Je ne puis m'empêcher de songer, Messieurs, qu'au XIIe siècle et même au commencement du XIIIe, parmi les sept arts libéraux, autrement dit les sciences, ne figure pas la médecine. Aux portails, dans les vitraux de nos plus anciennes cathédrales vous pouvez bien voir la géométrie, l'astronomie, la musique, la grammaire, la philologie, mais de médecine, point. Et ce n'est qu'un peu plus

tard, au milieu du XIII[e] siècle, que vous la verrez apparaître au portail de la cathédrale de Reims, portant à la hauteur de son œil une fiole où elle examine attentivement l'urine d'un malade.

En revanche, au portail de Chartres, vous verrez un personnage nommé MAGUS, le magicien qui symbolise l'alchimie, les recherches hermétiques, vainqueur du mal qui rampe à ses pieds et à qui cette petite statue fut élevée par la reconnaissance des hommes qu'il avait préservés ou sauvés. Ce n'est pas dans un sentiment de moins filiale ni de moins religieuse gratitude que nous donnons aujourd'hui sa statue au bon magicien qui a délivré l'humanité de fléaux qu'on croyait invincibles et qui a rendu aux malades découragés l'espérance d'être guéris un jour, la certitude qu'un jour la cause, le microbe de leur mal serait découvert.

Messieurs, je vous parlais tout à l'heure de cette peste si meurtrière de Florence, à ce moment vous avez vu qu'on croyait que la peste se propageait par des semeurs qui prenaient dans de vastes laboratoires des onguents pesteux qu'ils allaient répandre un peu partout. Eh bien ! les progrès de la science qui ont fait sortir du domaine du merveilleux pour les faire entrer dans celui de la réalité tant de rêves singuliers des vieux âges, semblent avoir réalisé aussi cette superstition d'une époque naïve, mais en changeant en bienfait le caractère de maléfice, comme ces poisons dont la médecine a fait des remèdes. Sans doute ce n'était que dans l'imagination des Hommes du moyen-âge qu'il y avait des laboratoires ou le germe de la peste était cultivé ; ils existent aujourd'hui en réalité ; on y cultive bien le principe mystérieux, il n'est plus destiné à combattre les Hommes, mais à les guérir et même à prévenir l'apparition de la maladie. PASTEUR, Messieurs, fut le créateur génial de ces laboratoires bienfaisants dont l'Humanité et la Science lui garderont une éternelle reconnaissance.

DISCOURS DE M. CHAMBERLAND

Délégué de l'Institut Pasteur.

Messieurs,

L'Institut Pasteur m'a fait l'honneur de me désigner pour le représenter à cette cérémonie. Je dois cet honneur à ma fonction de chef du service des vaccins, ainsi qu'à la part que j'ai pu prendre, avec mon ami, le D[r] ROUX, à la découverte de la vaccination charbonneuse. Ici, en effet, ce n'est pas au savant créateur de la bactériologie, ce n'est pas au génie bienfaisant qui a révolutionné la chirurgie, et renouvelé la médecine et l'hygiène, ce n'est même pas au vainqueur glorieux de l'affreuse maladie de la rage que vous avez voulu élever un monument ; c'est surtout à l'auteur de la découverte de la vaccination charbonneuse.

Messieurs, parmi les agriculteurs réunis dans une vive pensée de reconnaissance autour de ce monument, beaucoup se rappellent encore les ravages considérables causés autrefois par le charbon. Les troupeaux de

votre département payaient à ce fléau un tribut formidable. Les pertes annuelles se chiffraient par des millions de francs. On ne voyait d'autre remède que l'émigration du troupeau contaminé. Derrière ce troupeau restaient des mourants, et bientôt leurs cadavres devenaient une cause de propagation nouvelle du mal. Souvent dans le maniement de ces corps que l'on enfouissait, des vétérinaires, des cultivateurs et des bergers contractaient la pustule maligne. PASTEUR entreprit l'étude du charbon. Il commença par établir, avec la collaboration de M. JOUBERT, que le charbon était uniquement provoqué par un microbe spécial, la Bactéridie, que DAVAINE avait signalée dans le sang d'animaux charbonneux. C'est cette Bactéridie que PASTEUR isola, cultiva, démontrant sans conteste qu'elle était la cause du mal et la cause seule. Ce point capital établi, il vint en Beauce pour étudier sur place les causes de la maladie naturelle.

C'est en 1878, il y a juste vingt-cinq ans, que PASTEUR fit son premier voyage en Beauce. Je l'accompagnais. Nous nous rendions de ferme en ferme pour faire une petite enquête. Tout en étant très bien accueillis, je dois à la vérité de dire que les cultivateurs observaient, vis-à-vis de nous, une certaine réserve. PASTEUR n'était ni médecin, ni vétérinaire. Son titre de savant paraissait insuffisant ; les langues se déliaient avec peine. Parfois, pour couper court aux interrogations pressantes et précises qu'adressait PASTEUR, des propriétaires allaient, dans un sentiment de défiance, jusqu'à lui répondre que le mal n'existait plus. Et de la route nous apercevions des cadavres d'animaux abandonnés en pleins champs.

Grâce à l'obligeance d'un vétérinaire dont le nom mérite d'être rappelé dans cette grande journée, pour tant de services rendus à votre département, grâce à M. BOUTET (et j'y associe le nom de son fils qui, lui aussi, nous donna en toutes circonstances le plus précieux concours), PASTEUR put installer chez un agriculteur éclairé des environs de Chartres, M. MAUNOURY, dans sa ferme de Saint-Germain-la-Gâtine, un petit troupeau de moutons, dans les conditions généralement suivies en Beauce pour le parcage en plein air. Je vins m'installer à Chartres pour suivre les expériences instituées par PASTEUR. Vous savez tous, Messieurs, avec quel intérêt passionné, notre maître poursuivit cette étude de l'étiologie du charbon, les voyages qu'il faisait avec le docteur ROUX dans votre département et, comment, après deux ans, le mystère de la contagion fut enfin dévoilé.

Les animaux s'infectaient et devenaient malades en mangeant des herbes souillées de spores du Bacille charbonneux. Ces spores proviennent des Bactéridies contenues dans le sang et les débris des animaux morts, et elles sont ramenées des profondeurs à la surface du sol par l'intermédiaire des Vers de terre. La présence des spores put être mise en évidence partout où des cadavres d'animaux charbonneux avaient été enfouis, et cela même après plusieurs années. Ainsi se trouvaient expliqués les fameux *champs maudits* dont on nous parlait de tous côtés.

Si on réfléchit à la quantité de cadavres qui avaient traîné sur le sol et

avaient été enfouis tardivement un peu partout, la Beauce tout entière nous apparaissait alors comme un immense réservoir de germes charbonneux que les intempéries et les cultures ne pouvaient parvenir à détruire. Des mesures d'hygiène précises s'imposaient pour l'avenir : la destruction des cadavres le plus rapidement possible. Mais que faire en attendant? Chercher un remède? Même en admettant qu'on pût en découvrir un efficace, il n'eût pas été applicable dans la plupart des cas : souvent, en effet, on ne s'aperçoit de la maladie que quelques heures avant la mort. Et puis la maladie pouvait toujours renaître, les germes infectieux étant toujours présents. Un remède n'eut donc été qu'un palliatif insuffisant.

Il n'y avait qu'une vaccination, c'est-à-dire un état réfractaire durable obtenu artificiellement, qui pût avoir raison de cette profusion de germes et permettre aux animaux de paître indifféremment sur tous les champs, maudits ou non.

Le 28 février 1881, Pasteur annonçait cette grande découverte à l'Académie des sciences. Il ajoutait : « Dès qu'arrivera l'époque du parcage des troupeaux dans la Beauce, nous en tenterons l'application sur une grande échelle. » C'est donc ici que Pasteur se proposait de faire ses premiers essais pratiques.

Mais l'importance de la découverte était telle que, quelques jours seulement après cette communication, la Société d'Agriculture de Melun provoquait la mémorable expérience de Pouilly-le-Fort. Vous en connaissez tous le résultat et le profond retentissement qu'elle eut dans le monde entier. Pour la première fois, on peut le dire, puisque le vaccin du choléra des Poules était resté dans le domaine scientifique, pour la première fois, dis-je, un virus mortel était pratiquement transformé en un vaccin bienfaisant, cultivable artificiellement et indéfiniment.

Aussi de toutes parts, en France et à l'étranger, voulût-on répéter l'expérience publique de Pouilly-le-Fort; les résultats étaient si surprenants que tout le monde voulait voir avant d'être convaincu. C'est ainsi que furent faites les expériences de Fresnes, près Pithiviers, de Lambert, près de Chartres, d'Artenay, de Toulouse, de Nevers, de Mer (Loir-et-Cher), de Montpellier, de Bordeaux, d'Angoulême, de Clermont-Ferrand, etc., ainsi que nombre d'autres en Autriche-Hongrie, en Allemagne, en Italie, en Belgique, en Angleterre et en Suisse.

A la suite de ces expériences où tout se passa pour ainsi dire mathématiquement, suivant les prévisions du maître, les vaccinations charbonneuses sont entrées dans le domaine de la pratique. Les vétérinaires des pays à charbon, presque tous sceptiques au début, sont devenus nos zélés collaborateurs, et je suis heureux de l'occasion qui m'est offerte de leur témoigner publiquement notre gratitude. Chaque année depuis cette époque, c'est-à-dire depuis plus de vingt ans, en France seulement, 350.000 Moutons et 50.000 Bœufs ou Vaches sont vaccinés, et, dans ce chiffre, la Beauce entre pour près de moitié. Le résultat, vous le savez. Si

PASTEUR venait aujourd'hui pour recommencer son enquête du début, c'est avec juste raison que les cultivateurs lui répondraient : « Le charbon a existé autrefois dans nos fermes, mais nous ne le connaissons plus. »

C'est pour rappeler et perpétuer le souvenir de ce grand bienfait que la Beauce a élevé à notre maître ce superbe monument. L'Institut fondé par PASTEUR, imprégné de son esprit, et continuateur de sa tradition, vous apporte l'expression de sa reconnaissance.

DISCOURS DE M. ROUSSILLE

Président du Comice agricole de Chartres.

Messieurs,

Vous venez d'entendre célébrer, par les maîtres de la parole, la gloire impérissable de PASTEUR. Je ne prétends point redire cette longue et belle carrière consacrée au travail patient, à la science, à la bienfaisance. Mais, en raison du caractère tout particulier du monument que nous lui élevons aujourd'hui, des faits qu'il rappelle, de la place qu'il occupe, le Comité a pensé qu'un simple cultivateur, un Beauceron, au nom de ses collègues, devait retracer l'épisode qui fut l'occasion, la raison d'être de ce monument, modeste, mais bien sincère témoignage de reconnaissance d'un vaste pays de plaines dont les troupeaux, sauvés par la découverte de PASTEUR, font la fortune.

Louis PASTEUR avait déjà rendu les plus grands services par ses études sur les ferments, la guérison des vins, des bières, de la pébrine des Vers à soie, du choléra des Poules, quand son attention fut attirée sur une terrible maladie endémique qui décimait les troupeaux de la Beauce et de la Brie, se propageant à l'écurie, à l'étable, se communiquant même à l'Homme : on la désignait sous le nom de *sang de rate*. A l'instigation de M. BOUTET, vétérinaire à Chartres, PASTEUR vint, dès 1876, à l'équarrissage de Sours, étudier le sang d'animaux morts foudroyés par le terrible mal. Il en emporta. A son laboratoire de Paris, il le cultiva, dans des bouillons appropriés. Il y reconnut le Bacille, la Bactéridie du charbon, signalée par DAVAINE.

Il revint en 1878. Nous le voyons encore écoutant, les yeux fermés, « afin, disait-il, de ne pas laisser égarer sa pensée », les explications que lui donnaient quelques cultivateurs réunis chez M. BOUTET, sur la façon dont apparaissait la maladie, à quelles époques de l'année elle sévissait le plus, et lui signalant ce fait que, dans certaines pièces de terre, la mortalité doublait, triplait en quelques jours, menaçant le troupeau d'une destruction complète ; et lui, gravement impressionné, de dire : « Ce sont donc des champs maudits. » Ce fut alors que l'un d'entre nous, M. Jules MAUNOURY, éleveur émérite à Saint-Germain-la-Gâtine, mit courageusement, patriotiquement puis-je dire, avec un désintéressement au-dessus de tout éloge, sa ferme et son magnifique troupeau de Brebis mérinos à la

disposition de M. Pasteur, assisté de ses chers élèves, MM. Chamberland et Roux, aidés d'un jeune vétérinaire chartrain, M. Vinsot.

Ce fut là une longue, patiente et savante recherche, d'études, d'expériences sur quatre lots de Brebis et Moutons parqués, surveillés, soignés, diversement nourris sous la direction incessante, sous les yeux du grand maître, du grand chercheur, du grand savant. Ce fut là que se passa, à de nombreuses reprises, la scène si magistralement reproduite par l'habile ciseau de notre compatriote, M. Paul Richer. La Beauce entière attentive, anxieuse, suivait ces expériences.

M. Pasteur découvrit d'abord et démontra que le charbon n'apparaît pas spontanément, qu'il ne se propage pas par voisinage, par cohabitation, pas même toujours par l'absorption d'aliments arrosés de virus charbonneux, mais seulement par *inoculation* dans la moindre déchirure, la moindre excoriation que peut se faire le Mouton en mangeant quelque corps dur, des tiges de plantes séchées ou piquantes qui lui égratignent les lèvres ou les gencives. Et si, dans la nourriture qu'il prend à la suite, se trouve le Bacille du charbon, l'animal le gagne ; quelques heures après, fatalement, il meurt. Il peut même le prendre par une simple piqûre de chaumes aux pieds, ou par la piqûre d'une Mouche malsaine. Rentré à Paris, Pasteur continua ses expériences, ses cultures de virus, les étendant, les atténuant jusqu'à les rendre inoffensifs, préventifs même, jusqu'à en faire un vaccin qu'il essaya sur des animaux de toutes sortes.

L'année suivante, il revint à Saint-Germain, et recueillit à la surface du sol, du coin de champ où il avait fait enterrer quelques Moutons morts du charbon, de petites spirales de terre remontées là par les Vers qui avaient visité sans doute les cadavres des Moutons. Vues au microscope, lavées, cultivées, ces boulettes de terre révélèrent la présence de spores ou semences des Bactéridies charbonneuses, spores ou semences qui, déposées à terre, s'attachent aux tiges des plantes et, absorbées par l'animal, le contaminent, le tuent en lui donnant le charbon. C'était donc là *le champ maudit* ; ce fut un dernier trait de lumière pour Pasteur. Il avait trouvé, comme il le disait lui-même. Il affirma sa découverte à l'Académie des sciences et la prouva par des milliers d'applications, inoculant et vaccinant tour à tour toutes sortes d'animaux (un seul se montra réfractaire au charbon : le Chien et la Poule à sa chaleur normale qui dépasse 40 degrés).

Après les expériences faites à Pouilly-le-Fort, près de Melun, M. le docteur Roux vint à nouveau recommencer les inoculations et les vaccinations, reproduire en public cette scène que vous voyez, sur la ferme de Lambert, exploitée par M. Hérault, puis à Houdouenne, chez M. Challet. Le Comice agricole de Chartres qui avait, dès le début, demandé puis suivi, encouragé, aidé toutes ces recherches, pria M. Pasteur de faire, à Chartres même, devant la foule des cultivateurs, convoqués par la presse, une dernière et sensationnelle démonstration. Il lui procura, de ses deniers, un troupeau de 40 Moutons, d'âge, de sexe et de races différentes.

En mai 1881, M. le Dr Roux vint à Lucé, faubourg de Chartres, faire cette démonstration devant un nombreux public agricole. La moitié du troupeau, inoculé de virus virulent, périt en vingt-quatre heures ; l'autre moitié, vaccinée, retourna guérie dans les fermes.

De ce jour, la cause était gagnée ; la conviction était faite pour tous. Quelques semaines plus tard, 100.000 Moutons étaient vaccinés en Eure-et Loir. Et depuis ce temps, chaque année, dans tous les troupeaux, les jeunes Agneaux sont vaccinés au printemps. On ne trouve plus de champs maudits, le charbon a disparu de la Beauce. Quel service rendu, Messieurs, quel bienfait ! Pour en juger l'étendue, retenez, je vous prie, ces deux chiffres d'une rigoureuse exactitude : Avant la découverte de Pasteur, la Beauce perdait chaque année 19.50 °/ₒ de ses troupeaux, c'est-à-dire de 110 à 120.000 têtes sur un effectif de 600.000. — Depuis la vaccination pasteurienne, la mortalité est descendue à 0.80 °/ₒ de l'effectif, c'est-à-dire de 5 à 6.000 sur 600.000.

Quelle reconnaissance ne doit pas la Beauce à cet Homme qui ne fut pas qu'un grand savant, qui ne fut pas qu'un des plus beaux génies du XIXe siècle, mais qui, grâce aux conséquences heureuses qui, chaque jour découlent de ses découvertes, fut l'un des plus grands bienfaiteurs de l'humanité ! Voilà pourquoi, Messieurs, ce monument de marbre et de bronze, page inoubliable de notre histoire locale, souvenir impérissable d'un des plus grands faits qui se soient passés dans le monde scientifique et agricole, ce monument que nous avons voulu ici, sur une place, bien en vue, face à la Beauce, que Pasteur a parcourue et qu'il a sauvée. Voilà pourquoi cet immense concours de populations rurales qui viennent pieusement saluer ses traits augustes et vénérés.

Mesdames, et vous, Monsieur, qui portez ce grand nom, permettez-moi en terminant de vous présenter les respectueux hommages de tous ces agriculteurs et de vous dire en leur nom, car je ne suis ici que leur porte-parole : Les quelques mots que nous allons graver sur ce marbre sont depuis longtemps et resteront éternellement gravés dans nos cœurs :

A Louis Pasteur, la Beauce reconnaissante.

DISCOURS DE M. VINET

Messieurs,

Dans le concert d'éloges et d'acclamations qui s'élève pour glorifier Pasteur, vous voudrez bien me pardonner de venir à mon tour élever la voix, pour apporter mon humble tribut d'hommages, d'admiration et de reconnaissance. Des voix plus autorisées que la mienne vous diront les travaux du grand savant, les chemins de la science qu'il a fécondés, l'œuvre géniale qu'il a élevée. Je veux seulement rappeler aujourd'hui à Chartres, comme praticien, comme cultivateur, que j'ai eu le très grand honneur de recevoir Pasteur à la ferme de Garancières-en-Beauce.

C'était au début des études du maître sur le charbon ; avant d'entreprendre en Eure-et-Loir ses expériences décisives, il venait se documenter sur la maladie, ses causes apparentes, ses caractères, ses aspects, sur la valeur des pertes qu'elle causait alors dans la Beauce, le pays classique du charbon. Il me semble revoir PASTEUR m'interrogeant, me faisant dire toute l'histoire de nos troupeaux constamment décimés, ce pendant que lui-même attentif, écoutant silencieux, le front penché, concentré dans ses pensées, semblait déjà rassembler toutes les armes avec lesquelles il allait si brillamment triompher. Toute ma vie je déplorerai les causes qui ont empêché cet homme illustre de revenir à Garancières, car il avait bien voulu me donner la promesse formelle de commencer ses expériences à la ferme. Plus tard, en Beauce, à Saint-Germain-la-Gâtine, nous suivîmes avec passion les travaux qu'entreprirent PASTEUR et ses savants collaborateurs sur la maladie charbonneuse, et nous applaudîmes avec admiration aux belles expériences de Pouilly-le-Fort.

Je ne veux point évaluer devant vous les sommes considérables que les découvertes de PASTEUR nous ont conservées. Les milliards que PASTEUR a donnés à la France ne se comptent pas, pas plus que le nombre des vies humaines qu'il a économisées. Honorons donc PASTEUR ! Glorifions-le ! Nulle part sa mémoire ne doit être plus vénérée qu'en Beauce.

PASTEUR vivant a eu le bonheur de voir que ses travaux avaient enrichi son pays et soulagé l'humanité. Son jubilé fut le témoignage de la reconnaissance universelle et de la vénération des peuples. De toutes parts, dans tous les coins de la France, on élève des statues à PASTEUR ; il était donc juste que le pays beauceron, qui lui doit tant, ait voulu, lui aussi, prouver sa reconnaissance en élevant ce monument. Nous n'avons pas à craindre que le temps qui efface quelquefois des renommées paraissant durables, vienne atténuer la gloire de PASTEUR ; elle ne fera au contraire que grandir, et les générations futures apprendront encore à connaître ce génie. On leur dira qu'il fut un bienfaiteur de l'humanité, que sa vie tout entière fut synonyme de simplicité, travail, amour, désintéressement ; qu'il a reculé les bornes de la souffrance et de la douleur, et qu'enfin il fut un grand Français, car il fit la patrie plus glorieuse et plus grande.

DISCOURS DU Dr MAUNOURY

Président de la *Société des Médecins d'Eure-et-Loir*.

Messieurs,

Dans le solennel hommage que le département d'Eure-et-Loir rend aujourd'hui à la mémoire de PASTEUR, les médecins me chargent d'apporter leur tribut de reconnaissance et d'admiration. D'autres ont évalué les millions que ses immortelles découvertes ont conservés à l'agriculture de notre pays, mais c'est à nous qu'il appartient de parler des vies humaines qui ont été ainsi préservées. Bien que les affections charbonneuses eussent notablement diminué de fréquence, depuis que les expériences de l'Association

médicale d'Eure-et-Loir en avaient démontré la contagion, elles n'en restaient pas moins, il y a vingt-cinq ans, un fléau redoutable pour nos populations agricoles, et la Beauce méritait toujours son surnom lugubre de terre classique du charbon.

Lorsque PASTEUR vint faire ici ses premières recherches, il ne se passait pas d'années où nous n'eussions à déplorer dans notre région un certain nombre de morts dues à cette terrible maladie. Aujourd'hui ce cauchemar est évanoui ; la pustule maligne est devenue une rareté. Vous pouvez consulter les statistiques de notre Hôtel-Dieu de Chartres, vous y verrez qu'avant l'année 1881 qui marque le début des vaccinations, nous avions à traiter plusieurs cas de charbon chaque année, tandis qu'aujourd'hui il peut se passer un temps fort long sans que nous observions un seul malade; encore s'agit-il presque toujours d'un ouvrier d'industrie ayant manié des peaux venant de Chine ou d'Amérique. Si nos travailleurs agricoles, vachers, bergers, valets de ferme, si exposés autrefois, n'ont presque plus rien à craindre à présent, c'est au grand génie bienfaisant dont nous célébrons aujourd'hui la gloire qu'ils le doivent.

C'est pour le leur rappeler que nous avons eu la pensée d'élever ce monument. Il évoque en nous deux souvenirs, celui des études que PASTEUR vint faire lui-même en 1878 à Saint-Germain-la-Gâtine et celui des démonstrations publiques que MM. ROUX et CHAMBERLAND exécutèrent sous nos yeux en 1881 à la ferme de Lambert. Dans cette œuvre, où l'auteur a mis toute son âme d'artiste, de médecin et de Chartrain, se trouve ainsi condensée l'histoire complète de la découverte. Nous revoyons ici, tracés avec une rigoureuse exactitude, l'horizon que PASTEUR avait sous les yeux quand il se livrait à ses patientes recherches, la ferme où il recevait une hospitalité si franche et si cordiale de la part de M. et Mme Jules MAUNOURY qui, avec un désintéressement absolu, l'avaient mise à sa disposition, sans écouter les railleries de leurs voisins qui leur prédisaient que PASTEUR allait transformer leur exploitation en un vaste champ maudit où tous les bestiaux périraient du charbon. Dans ce cadre, sanctifié par le travail du maître, se déroule la scène du triomphe final, celle où ses fidèles disciples établissent avec une rigueur mathématique la vérité de ses conclusions.

Vos confrères vous remercient tout particulièrement, mon cher RICHER, d'avoir eu la pieuse pensée de placer, comme témoins de cette scène mémorable, deux membres de l'ancienne Assemblée médicale d'Eure-et-Loir, un vétérinaire et un médecin, heureux et surpris d'assister à une si merveilleuse et si imprévue confirmation de leurs travaux d'autrefois, et profondément émus en songeant aux grandes choses que leurs fils allaient voir s'accomplir.

Heureuse la génération médicale qui a vécu à ce moment et qui a eu la fortune inouïe de voir se succéder, dans l'espace de quelques années, toute une série de sublimes découvertes qui allaient révolutionner notre art. Pendant cette courte période, à jamais illustre dans l'histoire de l'Humanité, nous avons connu des émotions et des enthousiasmes que ceux qui vien-

dront après nous ne pourront pas soupçonner. Songez donc que, lorsque ceux qui vous parlent aujourd'hui étaient étudiants, la fièvre puerpérale régnait en permanence dans les maternités, que les services de chirurgie étaient décimés par l'infection purulente, et que maintes fois nous vîmes tomber le bistouri de la main de nos maîtres découragés et impuissants. Songez que pour combattre le croup, cet effroi des mères, nous n'avions à notre disposition qu'une redoutable opération, le plus souvent sans lendemain, et que, si l'un de nos concitoyens était mordu par un Chien enragé ou menacé du tétanos, nous ne pouvions qu'assister, spectateurs désarmés et attristés, à l'accomplissement d'une inexorable fatalité.

Il a suffi à Pasteur d'appliquer à la pathologie humaine les procédés rigoureux de sa méthode pour nous délivrer de ces angoisses. Tous nos grands progrès dérivent de lui. C'est l'antisepsie qui transforme la chirurgie et rend innocentes des opérations auxquelles il eût été jadis criminel de penser. C'est l'atténuation des virus, qui met dans nos mains le moyen de prévenir ou de guérir des maladies qui semblaient devoir rester à jamais au-dessus des ressources humaines. C'est toute une hygiène nouvelle créée. Mais à quoi bon énumérer les bienfaits dont la liste resterait nécessairement fort incomplète? C'est toute une voie nouvelle que Pasteur a ouverte, où il a jeté le germe, qui est loin d'être épuisé, de progrès incalculables dans l'avenir.

C'est pour toutes les vérités que vous nous avez révélées, grand Homme que l'on vénère aujourd'hui chez nous comme un sauveur, c'est pour tous les maux que vous avez vaincus, c'est pour toutes les larmes que vous avez séchées, que nous sommes fiers de posséder, sous forme de ce magnifique monument, un souvenir durable de votre passage parmi nous. Puisse-t-il rappeler à nos descendants la reconnaissance éternelle qui vous est due et éveiller en leur âme les deux nobles sentiments qui ont inspiré votre vie, l'amour de la France et le culte de la patrie.

DISCOURS DE M. ROUJON

Délégué du Ministre de l'Instruction Publique.

Messieurs,

Le Gouvernement de la République devait être représenté à cette solennité; je déplore pour vous qu'il n'ait pu déléguer M. le Ministre de l'Instruction publique et des Beaux-Arts à cette fête de la science, de l'art et du travail. M. Chaumié, retenu à son grand regret par des engagements antérieurs, m'a chargé d'être son interprète auprès de vous tous et a bien voulu me confier l'honneur de le représenter. Jamais, je dois le dire, délégation ne m'aura été aussi chère, car je suis venu parmi vous rendre hommage à l'universel et souverain génie que fut Pasteur; c'est pour moi un honneur des plus précieux.

J'ai la tâche difficile de parler le dernier, je crois que tout a été dit, comme si tout pouvait être dit sur un génie aussi infini, sur une œuvre

aussi vaste. Laissez-moi cependant ajouter quelques paroles, paroles de remerciements envers les organisateurs de cette fête, le Comité à qui nous devons le monument, la municipalité chartraine, toujours si zélée, paroles de remerciement à l'artiste inspiré et au savant éminent qui vient de nous léguer l'image de cette inoubliable bataille pacifique de Saint-Germain-la-Gâtine. Je suis sûr d'être l'interprète de tous en remerciant et en saluant le Dr Richer, statuaire.

S'il est permis de parler de soi-même, laissez-moi vous dire, qu'en présence de ce monument, en jetant les yeux sur les rangs de la famille de l'illustre immortel, en contemplant le visage de cet ami de ma jeunesse, je ne peux m'empêcher de me rappeler que tout jeune, inconnu, débutant, le grand homme voulut bien m'honorer de sa bienveillance et j'ai eu l'honneur de voir l'illustre Pasteur franchir la porte de mon cabinet pour me demander, ce qu'il demanda toute sa vie, de lui aider à faire le bien. Et certes, s'il sied, aujourd'hui, de glorifier son génie, il sied aussi de rappeler que le cœur était chez lui à la hauteur de l'intelligence et qu'il aimait le bien avec la même ardeur qu'il servait le vrai.

Définir Pasteur me semble impossible et tel est le rayonnement de son génie que tous les esprits peuvent comprendre son œuvre. L'Académie des sciences a délégué un des siens pour vous expliquer l'immense portée de ses travaux, l'Académie de médecine a envoyé un représentant pour vous montrer dans quelle voie nouvelle Pasteur avait orienté la sienne, mais dans cette terre de Beauce, il n'est pas de berger, pas de cultivateur qui ne comprenne la portée de cette œuvre; Pasteur est pour eux le bon sorcier qui change le poison en remède.

Certes, notre génie national tient sa digne place, dans l'histoire du XIXe siècle, avec les Lavoisier, les Lamarck, les Bichat; mais celui qui l'incarna le mieux fut certainement Pasteur. Vous demande-t-on, à l'étranger, de quels titres de noblesses vous vous recommandez, tous, littérateurs, savants, artistes, artisans, Hommes de guerre ou de paix, vous jetez le nom de Pasteur comme un passe-port devant lequel toutes les portes s'ouvrent. Pourquoi? Je crois qu'un petit enfant l'expliquerait mieux que qui que ce soit : parce qu'il a diminué la douleur, qu'il l'a diminuée à jamais, parce qu'il s'appelle Pasteur, parce qu'il est le bienfaiteur, parce qu'il est une grande date de l'histoire, parce qu'il représente cette époque de l'Humanité à partir de laquelle il coule moins de larmes des yeux des mères, parce qu'il n'est pas de gloire plus grande, de gloire plus pure et nous le saluerons, vous avec moi, avec respect.

Vous avez bien fait, Beaucerons, d'élever ce monument au milieu de vos plaines fécondes qui fournissent le pain de la patrie, au pied de cette cathédrale qui représente non seulement le génie gothique, mais le génie français, non loin de la statue du glorieux Marceau. Vous vous le deviez à vous-mêmes et je vous en remercie. Au pied de ce marbre et de ce bronze, vous amènerez vos fils afin qu'ils évoquent pieusement le souvenir de l'illustre savant et qu'ils sachent qu'à jamais la France sera grande d'avoir pu compter Pasteur parmi ses enfants.

LES FÊTES DE PASTEUR A MARNES

Le dimanche 12 juillet 1903, la jolie petite commune de Marnes-la-Coquette (Seine) a inauguré le monument qu'elle a élevé par souscription publique à PASTEUR (pl. XVI).

Marnes doit en effet une reconnaissance particulière à l'illustre savant; c'est sur son territoire, dans le domaine de Villeneuve-l'Etang, qu'il installa ses laboratoires pour l'étude de l'hydrophobie, qu'il se complut à passer une partie de ses étés et qu'il rendit enfin le dernier soupir. Aussi la municipalité de Marnes, en prenant l'initiative d'une souscription qui fut couverte presque entièrement par les habitants du pays, a-t-elle acquitté une dette de reconnaissance.

Le nouveau monument de PASTEUR est l'œuvre d'un jeune sculpteur de vingt-cinq ans, M. Fernand CHAILLOUX, simple petit apprenti, il y a encore quelques années, et qui, après s'être formé tout seul, était, au dernier Salon, jugé digne d'une médaille. L'architecte qui a complété l'œuvre est M. Louis JAUMIN, de Ville d'Avray. Ainsi, le monument, élevé grâce à la libéralité des gens du pays, est dû au talent de deux de leurs fils.

M. CHAILLOUX a donné au buste de PASTEUR qui domine le monument, un réel caractère de calme noblesse. Au pied de la colonne, qui supporte le buste, un jeune homme, le pied sur un des animaux qui servent aux recherches, tend vers le maître son bras inoculé.

Le monument s'élève en face de la mairie de la commune, sur la place, à l'entrée même du parc de Villeneuve-l'Etang.

Le Professeur DEBOVE, doyen de la Faculté de médecine, représentait le Ministre de l'Instruction publique et présidait la cérémonie. Il avait à ses côtés MM. DUPARQUET, maire de Marnes, président du Comité du monument, IMBERT, adjoint au maire, vice-président du Comité, les Drs ROUX et METSHNIKOV, de l'Institut Pasteur, GAUTHIER (de Clagny), député de la circonscription, et la famille de PASTEUR.

DISCOURS DE M. DUPARQUET

Maire de Marnes-la-Coquette.

Madame PASTEUR,

Permettez-moi, au nom de tous les membres du Conseil municipal et du Comité, au nom des habitants de Marnes et des pauvres en particulier, de vous souhaiter, ainsi qu'aux membres de votre famille, la bienvenue parmi nous. Acceptez, de la jeunesse de Marnes, cette gerbe de fleurs, seul hommage qu'elle puisse rendre à PASTEUR, et demeurez convaincue, Madame, que tous nos efforts tendront à leur faire vénérer celui dont vous fûtes la compagne si dévouée.

(A ce moment, un groupe de fillettes, ayant en tête Mlle LABORDERIE, remet à Mme PASTEUR une superbe gerbe de fleurs.)

Monsieur le Président,
Mesdames, Messieurs,

Cachée au milieu des bois, dépourvue de moyens de communication, connue seulement des artistes qui pouvaient en apprécier le charme, la petite commune de Marnes-la-Coquette, il y a vingt ans, ne semblait certes pas destinée à sortir de son obscurité. Mais PASTEUR y apparut ! Et ce grand génie a, tout à coup, resplendi sur cette petite commune; il lui a donné une parcelle de son immortelle gloire; les habitants de Marnes seront toujours fiers d'avoir, pendant quelques années, possédé parmi eux le plus grand bienfaiteur de l'humanité. C'est pourquoi ils ont tenu à ce qu'un monument s'élevât à son honneur dans ce parc de Villeneuve-l'Etang, témoin de ses derniers travaux.

Ici, ce n'est pas comme à Alais, aux sources de la sériciculture; comme à Melun et à Chartres, à l'auteur de la découverte de la vaccination charbonneuse ; comme à Lille, à celui qui a transformé les industries dues à la fermentation, que nous avons voulu élever un monument, mais bien au vainqueur de la rage, à l'homme qui donna tant de milliards à la France et économisa, dans le monde entier, un si grand nombre de vies humaines.

Il me suffira de rappeler en quelques mots ce que fut la vie de ce grand homme pendant les dix années qu'il passa parmi nous. C'est au début de l'année 1885 que commençaient les travaux d'installation à Villeneuve-l'Etang, pour les études sur la rage. Il faut bien reconnaître que ce ne fut pas sans effort et sans lutte. Dès que le projet de PASTEUR fut connu dans la banlieue parisienne, la terreur se répandit. Personne ne voulait se résoudre à supporter le voisinage des Chiens enragés. La forêt de Meudon avait tout d'abord été choisie, mais les habitants de ce pays s'opposèrent énergiquement à cette installation. Il en fut de même à Garches, à Marnes, et dans toutes les communes avoisinantes. Les mères craignaient pour leurs enfants, et tous voyaient déjà nos délicieuses promenades de Saint-Cloud et de Villeneuve infestées de Chiens furieux échappés des chenils et troublant de leurs hurlements la tranquillité de ces bois. Les municipalités, convaincues, elles aussi, qu'il y avait là un réel danger, organisaient une vaste pétition et s'efforçaient de faire échouer le projet.

Grâce à sa patience, PASTEUR triompha de tous les obstacles; mais que de soucis aurions-nous pu lui épargner, si nous avions été mieux éclairés ! Dès que son installation fut terminée, le calme revint dans les esprits, et, aujourd'hui, il ne reste plus, de cette opposition à une œuvre nationale, qu'un mauvais souvenir bien effacé par cette journée.

C'est que le succès couronnait déjà les efforts de PASTEUR.

Dès la première année, au mois de juillet 1885, il y a exactement dix-huit ans, le grand homme arrachait à la mort une des victimes déjà mar-

quées par elle. Un jeune Alsacien, le petit MEISTER, âgé de neuf ans, avait été affreusement mordu par un Chien enragé. Il fut amené à PASTEUR qui commença, non sans appréhension, à lui appliquer le traitement qu'il n'avait jusqu'alors expérimenté que sur des Chiens. A la fin de la première quinzaine de juillet, l'enfant était sauvé !

C'est donc un anniversaire que nous fêtons aujourd'hui, en même temps que nous glorifions la mémoire d'un grand savant. Que faire de mieux pour cette gloire que de rappeler ce triomphe de la vie sur la mort ! Après ce premier succès, les cas de guérison se multiplièrent. Des villages reculés de la Russie elle-même, des malheureux, mordus par des Loups enragés, viennent à PASTEUR. A quoi bon insister, la preuve est maintenant faite et personne n'hésite plus à recourir aux soins dévoués des glorieux continuateurs du grand homme !

L'annexe de Villeneuve-l'Étang ne pouvait avoir, au point de vue scientifique, l'importance des Laboratoires de Paris. Elle était cependant d'une utilité incontestable, puisqu'elle permettait d'observer de près les Chiens inoculés et que, dans la suite, elle donna l'hospitalité à de nouveaux pensionnaires, les Chevaux destinés aux expériences du grand savant qu'est le Dr ROUX. Mais pour nous, habitants de Marnes, nous considérons surtout que cette installation nous a unis de plus près à l'illustre PASTEUR. Comme tous les Français, nous nous honorons d'être les concitoyens d'un grand homme. — Mais, puisqu'il est venu parmi nous, nous croyons avoir le droit de le revendiquer davantage. — Au même titre que les habitants de Dole et d'Arbois, qui l'ont vu naître et grandir, nous voulons le mieux glorifier, parce que nous l'avons vu mourir. PASTEUR, à Villeneuve comme partout où il avait passé, était adoré de tous, comme doit l'être celui qui, pendant toute son existence, n'a semé que le bien et n'a pensé qu'à diminuer les souffrances humaines. C'est pourquoi il nous a semblé que ces arbres séculaires devaient aussi participer à sa gloire, et que ce cadre de verdure, simple et grandiose, devait être choisi pour honorer le savant dont la vie fut toujours aussi simple qu'elle fut glorieuse.

A cette place, l'art est venu rendre hommage à la science.

Le monument élevé à l'honneur de PASTEUR est l'œuvre de deux jeunes artistes, nos compatriotes (car M. CHAILLOUX nous permettra de le considérer un peu comme notre enfant d'adoption). MM. CHAILLOUX et JAUMIN ont participé de tout leur cœur et de toutes leurs forces à la glorification de PASTEUR. Je veux les remercier de leur œuvre et exprimer à M. CHAILLOUX toutes nos félicitations pour l'éclatant succès qu'il vient de remporter au Salon des Artistes français. Je désire aussi faire part de ma sincère gratitude aux membres du Comité pour leur dévouement à l'œuvre aujourd'hui accomplie. J'adresse aussi mes plus vifs remerciements aux généreux donateurs qui nous ont si puissamment aidés à mener à bien notre tâche. Enfin, je me fais l'interprète de tous, en remerciant vivement M. le Ministre de l'instruction publique et des beaux-arts, M. le Dr DEBOVE, qui a bien voulu accepter la délégation de M. le Ministre et présider cette

cérémonie, et toutes les notabilités du monde politique, artistique et savant qui rehaussent, par leur talent et leur présence, l'éclat de cette cérémonie.

Monsieur et cher Conseiller, au nom des membres du Comité, au nom de tous ceux qui ont participé à son érection, j'ai l'honneur de confier à la commune de Marnes la garde du monument élevé à la mémoire de Louis PASTEUR.

DISCOURS DE M. FANON

Délégué du Conseil municipal.

Monsieur le Président du Comité,

Le Conseil municipal de Marnes-la-Coquette m'a délégué comme doyen d'âge pour répondre à l'offre faite par le Comité que vous présidez, de remettre à la commune le monument élevé, au moyen d'une souscription, à la mémoire de M. Louis PASTEUR, non loin des bâtiments où sont établis les laboratoires créés par cet illustre savant.

Au nom du Conseil, j'ai mission d'accepter votre don, de vous en remercier, vous, Monsieur le Président, ainsi que tous vos collaborateurs, et de vous promettre qu'il sera l'objet des soins et de la surveillance de la municipalité.

Si ce monument peut être inauguré aujourd'hui, c'est grâce à votre initiative personnelle, à votre inlassable persévérance, à vos instantes sollicitations pour obtenir subventions des pouvoirs publics, des sociétés scientifiques et des municipalités voisines, nombreuses souscriptions des habitants de notre commune et de leurs parents et amis ; près de tous vous avez trouvé bon accueil, ce qui vous a permis de réunir les fonds nécessaires.

Dans cette lourde tâche, les membres du Comité vous ont utilement secondé ; aussi, tous vous avez droit aux sentiments de gratitude que je suis chargé de vous transmettre de la part du Conseil municipal de Marnes-la-Coquette.

DISCOURS DE M. LE Dr E. ROUX

Délégué de l'Institut et de l'Académie de médecine.

Le Dr ROUX dit que le monument inauguré aujourd'hui est consacré « à PASTEUR, vainqueur de la rage ». Il rappelle comment PASTEUR fut appelé, au cours de ses études sur l'hydrophobie, à devenir un habitant de Marnes. C'était en 1884 ; après quatre années de recherches, le maître était parvenu à rendre les Chiens réfractaires à la rage : il restait à savoir si l'immunité ainsi conférée était passagère ou de longue durée. Une semblable expérience exigeait un grand nombre d'animaux : on ne pouvait les installer dans l'intérieur de l'Ecole Normale supérieure. On songea d'abord à Meudon, où l'Etat possédait des terrains disponibles ; mais ici on se heurta

à l'hostilité des habitants, « qui se voyaient déjà livrés aux dents d'une meute enragée ». PASTEUR eut beau expliquer qu'il n'amènerait que des animaux déjà reconnus réfractaires à la rage : « la peur était d'autant plus forte qu'elle était moins justifiée ».

Il fallut chercher ailleurs.

« Ce domaine de Villeneuve-l'Etang, ancienne résidence impériale, était vide; PASTEUR vint le visiter. Le château, saccagé pendant la guerre, n'était plus qu'une ruine au milieu des arbres, mais les écuries restaient debout et il était facile d'en faire, pour les Chiens, une confortable habitation, assez éloignée des maisons pour ne gêner personne. Villeneuve-l'Etang, tout ruiné qu'il était, convenait donc parfaitement, et l'Etat le mit à la disposition de PASTEUR. Je ne serais pas un véridique historien, si je disais que PASTEUR avec ses Chiens fut bien accueilli tout d'abord. Les proches voisins vinrent protester, mais il n'était rien de mieux que de causer avec PASTEUR pour s'entendre avec lui. Il dissipa si bien les craintes que ceux qui avaient commencé par redouter son voisinage, ne tardèrent pas à lier avec lui des relations dont ils conservent le précieux souvenir. L'entente fut bientôt complète, et la commune de Marnes, fière de son hôte, élève aujourd'hui un monument en son honneur.

» Dès les premiers jours de l'été, PASTEUR s'installait à Villeneuve-l'Etang. Quelques pièces, situées au-dessus des écuries avaient été aménagées à son usage. Les chambres, basses de plafond, tapissées d'un papier à bon marché, constituaient pour lui le plus confortable des logements, car elles communiquaient de plain pied avec le laboratoire.

» A Villeneuve, l'ombre des grands arbres, le bruit cristallin de la fontaine au-dessous de la terrasse, tout engage au repos. Quand nous venions voir le maître, nous subissions l'influence de ce milieu frais et tranquille, et nous aurions volontiers oublié le laboratoire et les travaux. Il n'en était pas de même de PASTEUR : lui combinait sans cesse des expériences nouvelles ; dans les allées ombragées comme à la table de famille, il nous entretenait de ses projets et nous partions avec tout un programme de recherches. Seuls les collaborateurs de PASTEUR dans l'étude de la rage savent ce qu'elle lui a donné de peine.

» PASTEUR revenait encore à Villeneuve-l'Étang, parce qu'il se plaisait dans cet endroit où il avait tant travaillé et dont il avait fait une annexe de l'Institut Pasteur.

» Aux belles heures de la journée, il se tenait volontiers assis à l'ombre d'un bouquet de Hêtres pourpres et là, entouré des siens, il recevrait ses amis, ses voisins, ses admirateurs. Aucun de ceux qui sont venus le visiter dans les derniers moments de sa vie n'oublieront le spectacle touchant de ce grand homme qui, après tant de merveilleuses découvertes, regrettait de n'avoir pas fait plus encore.

» Le nom de Villeneuve-l'Étang rappellera toujours les travaux de PASTEUR sur la rage. »

Le Prof. METSHNIKOV parle ensuite, au nom de l'Institut Pasteur; il

`vaux accomplis par le maître dans sa laborieuse des anciens collaborateurs de PASTEUR, il ;énéreuse initiative.

DE M. GAUTHIER (de Clagny)

Député de la Seine.

, Messieurs,

ous le rappelait à l'instant, c'est à quelques pas d'ici, dans :use retraite de Villeneuve-l'Étang, que, le 28 septembre 1895, après quelques mois de maladie, est entré dans l'éternel repos. ınicipalité de Marnes-la-Coquette a voulu consacrer ce pieux sou-, en élevant ce monument à la mémoire du plus illustre de ses es, du plus glorieux de nos savants. C'était une lourde tâche qu'elle entreprenait; bien d'autres villes plus puissantes, plus riches, l'avaient précédée dans cette initiative; mais grâce à l'activité, au zèle, à la persévérance du dévoué maire de Marnes et de ses collaborateurs, grâce au désintéressement de jeunes artistes pleins de talent, cette généreuse tentative a été rapidement couronnée de succès. Nous devons adresser à tous nos félicitations cordiales et nos sincères remerciements.

Messieurs,

PASTEUR était un grand savant, il était aussi un admirable patriote. Le savant vient d'être célébré devant vous par les plus éminents collaborateurs de ses travaux; permettez à un représentant du peuple de vous dire quelques mots du patriote... Car ce n'est pas seulement l'amour et le culte de la science, c'est plus encore peut-être le culte et l'amour de la patrie, que nous enseigne la vie de PASTEUR.

La patrie..., ce mot résonnait jusqu'au plus profond de son être; tout jeune, il avait appris à la connaître, à l'aimer, à la servir.

Fils d'un vieux sergent de la Grande Armée, son père l'avait bercé du récit de nos gloires et de nos malheurs. Devenu, après 1815, maître tanneur à Arbois, le soldat de Wagram et de Waterloo se plaisait, par-dessus tout, à la lecture des livres retraçant l'héroïque épopée de la Révolution et de l'Empire. C'est dans ces livres que PASTEUR apprit à lire, c'est en les lisant qu'il conçut l'ambition de faire, lui aussi, de grandes choses, de donner à sa patrie le relief lumineux de son génie et de sa gloire. Dans ce milieu familial d'un patriotisme aussi ardent que désintéressé, PASTEUR puisa les grandes qualités de sa vie : la ténacité, le courage, l'enthousiasme, le goût du noble labeur. Le vieux sergent lui avait transmis toute son âme de simplicité et d'héroïsme.

Voilà PASTEUR à Paris, à l'École Normale. La Révolution de 1848 éclate; notre jeune étudiant s'enthousiasme pour la République et pour la liberté; il croit entrevoir dans cette rude secousse populaire, qui ébranle les

trônes de la vieille Europe, la suprême revanche des humiliations de sa patrie.

Un détail charmant, qui le peint en entier : pour faire face au déficit du Trésor, une souscription publique a été ouverte par le *National*; Pasteur envoie toutes les économies de sa modeste bourse, cent cinquante francs, la totalité de sa fortune de jeune homme. A la demande de son père, qu'il a consulté et qui encourage ce sacrifice, son envoi est ainsi libellé : « Don anonyme du fils d'un soldat de la Grande Armée, décoré par l'empereur. »

Pasteur est nommé professeur à Strasbourg, puis à Lille; il rentre enfin, comme maître, à cette École Normale où, simple élève, il s'était déjà signalé par des travaux originaux. Toujours et partout, le souci de la patrie va de pair chez lui avec le souci de la science. On le vit bien, quand la France meurtrie dut se défendre contre l'invasion.

Au moment où la guerre éclata, Pasteur venait d'être frappé d'une attaque qui paralysa la moitié de son corps. On dut le transporter à Arbois. Incapable de prendre lui-même les armes pour défendre sa patrie, il lui donna ce qu'il avait de plus cher et de meilleur; à dix-huit ans, son fils s'engageait comme simple soldat. Malade, impuissant, il se désolait de nos revers et ne pouvait trouver dans ses travaux habituels aucune distraction à sa douleur. Dans le superbe monument littéraire que la respectueuse piété d'un membre de sa famille a édifié à la mémoire de cet admirable Français, nous assistons avec une véritable angoisse à toutes les tortures de cet âme d'élite, que déchiraient les souffrances et les deuils de la patrie envahie.

En décembre 1870, le journal officiel de M. de Bismarck déclarait que Paris était à bout de résistance morale et que le « moment psychologique du bombardement » était arrivé. Depuis quelque temps déjà, on faisait circuler à Berlin des pétitions demandant le bombardement de Paris, et ces pétitions se couvraient de signatures d'écrivains, d'artistes, de penseurs, de savants allemands. Le 5 janvier 1871, le bombardement commença ; pendant trois semaines, toute la rive gauche de Paris, avec ses hôpitaux, ses écoles, ses établissements scientifiques et littéraires, fut couverte d'obus incendiaires. Dans la nuit du 8 au 9 janvier 1871, le Muséum, renfermant d'inestimables collections d'histoire naturelle, fut en partie détruit.

Pasteur honorait profondément la science allemande; mais, quand il la vit se mettre au service des vandales qui incendiaient les monuments de la science française, il comprit la vanité de ce rêve généreux de la paix universelle qui hante périodiquement l'esprit de quelques-uns de nos concitoyens. Il déclara qu'il ne voulait plus avoir de rapports avec les philosophes du bombardement et les organisateurs du massacre scientifique, et, saisi d'indignation, il renvoya à l'Université de Bonn le diplôme de docteur *honoris causa* qu'elle lui avait décerné pour ses grands travaux sur les Levûres et les générations spontanées.

Quand la paix fut signée, son cœur fut déchiré, mais il ne perdit pas sa foi dans l'avenir. « Il souhaitait, dit son biographe, que par des extraits puisés dans les correspondances militaires, dans les œuvres des historiens, des poètes, dans le récit des épisodes glorieux ou douloureux de l'invasion, on constituât un manuel de patriotisme, destiné à nos foyers et à nos écoles. »

Cependant, le renom de Pasteur grandit de plus en plus; en pleine possession de son admirable méthode, il ajoute chaque année une découverte aux découvertes précédentes. On le considère comme le maître de la vie ou de la mort; on lui écrit de tous les points du globe pour lui demander d'étudier des maladies réputées incurables. Ce n'est plus seulement la France, c'est l'Europe entière qui l'admire et l'honore; à Londres, à Copenhague, dans tous les congrès internationaux, sa seule présence suscite des acclamations sans fin.

Se laisse-t-il aller à un cosmopolitisme que l'enthousiasme de tous les peuples unis pour célébrer sa gloire semblait lui conseiller ?... Jamais, au contraire, sa pensée patriotique n'a été plus ferme et plus précise.

« La science, dit-il, dans une parole d'une vérité saisissante, la science n'a pas de patrie, mais l'homme de science en a une », et il ajoutait à Copenhague, dans ce pays qui, lui aussi, a souffert de l'attentat de la force contre le droit : « Dans tout grand savant, vous trouverez toujours un grand patriote. »

Jusqu'à la fin de sa vie il aima sa patrie d'un amour ardent et jaloux ; il resta le français de notre génération qui a vu la guerre, qui porte au cœur le deuil de la patrie mutilée et se refuse à oublier d'inoubliables souvenirs.

Quelques mois avant sa mort, entouré des hommages du monde entier, Pasteur fut pressenti discrètement pour savoir s'il accepterait une décoration allemande du plus haut rang, que l'empereur voulait lui conférer. Il répondit avec la plus grande courtoisie, se déclara touché de l'offre et de la démarche discrète..., puis il refusa.

Messieurs,

En terminant, laissez-moi vous faire entendre la voix de Pasteur lui-même ; aucune ne vous prêchera le patriotisme avec plus d'éloquence et plus de force. Voici ce qu'il disait à Dole, le 14 juillet 1888, alors que, placé devant la maison où il naquit, il évoquait le souvenir de son père et de sa mère. Beaucoup de ceux qui m'écoutent se rappellent, sans doute, ces paroles admirables, mais j'ai plaisir à les redire ici, au pied de ce monument qui commémore les derniers instants de la vie de Pasteur.

« O ma mère, disait-il à Dole, tes enthousiasmes, tu les as fait passer en moi. Si j'ai toujours associé la grandeur de la science et la grandeur de la patrie, c'est que j'étais imprégné des sentiments que tu m'avais inspirés...

« O mon père, je te vois encore après ta journée de labeur, lisant le

soir quelque récit de bataille d'un de ces livres d'histoire contemporaine qui te rappelaient l'époque glorieuse dont tu avais été témoin.

« En m'apprenant à lire, tu avais le souci de m'apprendre la grandeur de la France. »

En m'apprenant à lire tu avais le souci de m'apprendre la grandeur de la France... Ah ! Messieurs, puissent tous ceux qui ont la lourde responsabilité de former le cœur, l'intelligence et la volonté de nos jeunes Français, se rappeler toujours cet admirable enseignement.

C'est au rayonnement du génie de la France qu'a pu éclore le génie de PASTEUR !

DISCOURS DE M. LE PROFESSEUR DEBOVE

Doyen de la Faculté de médecine,
Délégué du Ministre de l'Instruction Publique.

Messieurs,

Nombreux sont les monuments et les discours glorifiant PASTEUR ; nous pouvons les multiplier, ils n'éteindront jamais notre dette de reconnaissance.

Grâce à lui, nous avons pénétré le mystère des maladies infectieuses. Il a été guidé dans ses recherches par un patriotisme élevé et par l'enthousiasme de son génie créateur. Il ne s'est laissé aveugler par aucune théorie, observant cette maxime de BOSSUET qu'il voulait inscrire en tête d'un de ses ouvrages : « Le plus grand dérèglement de l'esprit est de croire les choses, parce qu'on veut qu'elles soient. » Si en effet on a été séduit par une théorie, on la confond avec la vérité, on la défend avec ardeur et, oubliant combien l'esprit de l'Homme erre facilement, on prend l'intensité de sa conviction pour une preuve irréfutable.

Personne mieux que PASTEUR n'évita cet écueil : il était toujours prêt à s'incliner devant les résultats de l'expérience et ne tenait à ses idées qu'autant qu'elles concordaient avec les faits.

Pour caractériser l'œuvre de PASTEUR, je ne saurais mieux faire que de reproduire en le lui appliquant ce qu'il a dit de LAVOISIER : « Son œuvre, disait-il, restera toujours jeune. Certains détails pourront vieillir comme des formes et des modes d'un autre temps, mais le fond, la méthode, constituent un des grands aspects de l'esprit humain, dont les années augmentent encore la majesté. C'est dans ces modèles achevés qu'il faut contempler pour la comprendre la marche de la pensée déchirant les voiles de l'inconnu. C'est par la lecture des travaux des inventeurs que la flamme sacrée de l'invention s'allume et s'entretient. »

Nous félicitons M. CHAILLOUX, dont le beau monument rappelle sous une forme dramatique la guérison de la rage. Félicitons aussi la ville de Marnes. Justement fière d'avoir eu PASTEUR pour hôte, elle n'a pas voulu laisser oublier ce glorieux souvenir, sachant bien que le culte des grands hommes est un devoir et marque aux jeunes générations le chemin qu'elles doivent suivre.

Au cours de la cérémonie, après les deux premiers discours, fut exécutée la cantate suivante, qui a été très applaudie.

HOMMAGE A PASTEUR

Cantate pour soli, chœurs et orchestre.
Poème de Léon PETITJEAN, musique de Marguerite AUDAN (1).

PERSONNAGES :

La Science (mezzo soprano).	Mlle Louise GÉNICOUD.
Le Berger (ténor)	M. CHEYRAT.
PASTEUR (baryton).	M. Jean RÉDER.

L'exécution a été dirigée par M. Joseph AUDAN.

La cantate « *Hommage à Pasteur* » est la traduction littéraire et musicale du monument de CHAILLOUX. Elle débute par un court prélude instrumental exposant les deux principaux thèmes de la *Science* et de PASTEUR auquel succède une fugue (symbole des temps anciens) par voix d'hommes avec accompagnement d'orchestre : *La tour de la douleur humaine...* suivi d'un chœur pour voix de femmes à 6/8 exprimant la confiance et la joie : *Par toi grandit notre courage....* puis le chœur général : *Grand Immortel....* avec toutes les ressources de l'orchestre termine majestueusement la première partie.

La deuxième partie est un morceau symphonique donnant l'impression du calme des champs, de la beauté et de la grandeur de la nature un beau jour d'été; le berger conduit son troupeau suivi de son Chien; il fait entendre sur son pipeau une pastorale pleine de sérénité, qui plus tard, transformée, va devenir le motif de la rage. Le Chien atteint par le terrible mal subit un accès soudain, se jette sur son maître et le mord. Lutte avec le berger qui finalement tue l'animal. Dialogue des paysans épouvantés : *Viens berger, viens à lui, bientôt tu guériras....* Les violoncelles font entendre le thème mineur de PASTEUR, puis le berger, sur un accompagnement en syncope, invoque le Maître : *Maître, sur moi jette un regard.....* Cette scène est traversée par les différents thèmes et par le chœur : *Pauvre berger ta douleur est immense....* à ce moment la scène devient très dramatique aux paroles : *Mon chien fidèle m'a blessé....* après les paroles du chœur : *Pasteur, évoque ta science....* le cor fait entendre sous un accompagnement de clarinette le thème de la Science, inspirant PASTEUR, lequel thème est repris par tout l'orchestre sur un contrepoint des basses. Apparition de PASTEUR, qui répond au berger sur le même motif de l'invocation : *Tu m'appelles, me voici....* mais accompagné par la harpe et le contre-chant des cordes. Au moment des paroles : *Tu chanteras ta délivrance....* le thème de la Science est annoncé par les trompettes, puis un tutti d'orchestre, suivi de termes de flûtes, hautbois et clarinettes dans l'aigu, accompagne « la Science » : *A ton appel, maître, j'accours....* le

(1) Versailles, Société anonyme des imprimeries GÉRARDIN, in-8° de 12 p., 1903.

chant continue à 2/4 accompagné en arpèges par les violons et altos à 6/8 et contre-chants par les instruments à vent. L'adieu de « la Science » se fait par le même procédé qu'à son arrivée, le cor chante le motif de PASTEUR avec une pédale de basson.

A partir de ce moment le final commence et la parole est aux chœurs et à l'orchestre : *Gloire au noble fils de la France....* une large phrase de cordes sous laquelle les voix s'unissent par fragments, chante avec des accents de reconnaissance la gloire du grand Génie ! Aux paroles : *Gloire à la France — Gloire à la Science — Gloire à Pasteur....* l'orchestre fait entendre, d'abord un fragment de nos chants nationaux ; puis le motif déjà connu de la Science et, enfin, les trombones exultent dans le thème caractéristique de PASTEUR.

Cette cantate est conçue dans le style moderne et descriptif, avec les moyens d'un orchestre complet sans le secours d'instruments exceptionnels et de chœurs mixtes. Les thèmes symboliques qui traversent l'ouvrage n'ont point une ligne conductrice ininterrompue, mais ils se présentent épisodiquement pour colorer les situations et renforcer l'expression.

HOMMAGE A PASTEUR

(Au moment où l'on découvre le Monument)

I

CHŒUR D'HOMMES

La tour de la douleur humaine
A perdu l'un de ses créneaux ;
Vainement le mal tend sa chaîne,
Ta science en rompt les anneaux.
Nous te saluons, grand génie,
La foi nous amène en ce lieu,
Que chacun en toi communie,
Nous te saluons comme un Dieu !
Nul ne fut destructeur de plus sombres bastilles !
Venez, enfants ? Venez, femmes et jeunes filles ?
Voyez, soldats, nos fils, le vrai triomphateur ?
Français, lançons aux cieux nos hymnes de tendresse !
C'est pour toi, Glorieux, ces gerbes que l'on tresse,
Pour toi, noble PASTEUR !

CHŒUR DE JEUNES FILLES

Par toi grandit notre courage !
Sans crainte courant les chemins,
Aux Chiens errants tendant les mains,
Nous ne redoutons plus la rage,
Maître, nous t'apportons des fleurs.
Des fleurs de France aux trois couleurs !

ENSEMBLE

Grand Immortel,
De ton scalpel
Quand tu fouillas le germe immonde,
Tu fus, PASTEUR,
Libérateur
Du monde !
Nous te fêtons avec fierté,
Simple et tendre penseur, digne du temps antique,
Honneur de notre Républiique,
Artisan de la liberté !

II

UN GROUPE

Mais quel est ce berger !
Voyez saigner son bras !

AUTRE GROUPE

Ses traits sont empreints d'épouvante !
Viens, berger ? Viens à Lui ! Bientôt tu guériras !

LE BERGER

Maître, sur moi jette un regard !
Le poison que mon sang recèle
Pénètre ma chair comme un dard,
Et j'ai tué mon Chien fidèle !
Sur moi le pauvre s'est rué,
Il m'a mordu, je l'ai tué,

(*regardant son Chien*)

Cher compagnon de mon enfance,
Si souvent tu m'as caressé !
La rage qui met en démence
Contre ton maître t'a poussé
Tu souffrais, ton mal a cessé :
Dors, ami, c'est la délivrance !

UN GROUPE

Pauvre berger, ta douleur est immense :
Pour lui, PASTEUR, évoque ta science

LE BERGER

Mon Chien fidèle m'a blessé
Maître, vois mon bras affaissé !
Mille démons peuplent mon rêve !
L'effroi me vient de toute part,
Suppliante, ma voix s'élève,
Maître, sur moi, jette un regard !

LES CHŒURS

Pauvre berger, ta douleur est immense !
Pour lui, PASTEUR, évoque ta science !

III

PASTEUR

Tu m'appelles ! — Me voici !
Chasse, enfant, ton noir souci ?

C'est pour toi, berger jeune et fort,
Pour ceux qui vont à l'aventure,
Que j'ai surpris, non sans effort,
Le mystère de la nature !

Bientôt, parmi les tiens, joyeux,
Tu chanteras ta délivrance :
Regarde, enfant ? Devant tes yeux
Vient d'apparaitre la Science !

CHŒURS

Combien vous êtes belle !
A vous tout notre cœur, ô Science éternelle !

IV

LA SCIENCE

A ton appel, Maître, j'accours !
D'un sénat de savants j'ai laissé les discours
Pour répondre à ta voix aimée
(*montrant le berger*)
J'éteindrai la douleur en son sein enfermée !

LA SCIENCE (au berger)

Tu vas me connaître,
Berger, viens à moi !
C'est l'ordre du Maître,
Viens sans nul émoi !

Pasteur — sais-tu bien, — me créa si belle
Pour confondre un jour les esprits moqueurs ;
Il sut mettre en moi la vive étincelle
Qui peut, à jamais, m'attacher les cœurs.

Vénérez, Ami, ce père sublime,
Il règne avec moi sur l'humanité !
Adieu ! mon séjour est la haute cime,
Où l'Être combat pour la vérité !

V

CHŒUR FINAL

Gloire au noble fils de la France!
Gloire à PASTEUR!
Au lutteur qui, de la souffrance,
Sut atténuer la puissance!
Gloire au libérateur!
Grand cerveau qui féconde,
Tu fus du monde
Le bienfaiteur!

Gloire à la France,
A la science,
Gloire à Pasteur.

Au nom du Ministre de l'Instruction Publique, M. le Prof. DEBOVE a remis les palmes d'Officier d'Académie à M. CHAILLOUX, à M[lles] AUDAN et GÉNICOUD et à M. GROSSE, ancien secrétaire de la mairie de Marnes. Des médailles commémoratives ont été également remises à MM. CHAILLOUX et JAUMIN.

MONUMENTS ÉLEVÉS A LA GLOIRE DE PASTEUR

Les monuments élevés à la gloire de PASTEUR par souscription publique ou par décision de l'autorité sont déjà très nombreux. Plusieurs d'entre eux ont été déjà figurés dans les *Archives*; nous donnons une reproduction de la plupart des autres :

1° Plaque commémorative placée, le 14 juillet 1883, sur la maison natale de PASTEUR, à Dole, et portant cette inscription :

ICI EST NÉ LOUIS PASTEUR
LE 27 DÉCEMBRE 1822.

La rue où est située cette maison s'appelait autrefois rue des Tanneurs; elle porte maintenant le nom de Pasteur.

2° Buste par Paul DUBOIS, érigé en août 1895, alors que PASTEUR vivait encore, sur la place publique du village de Seriana (Algérie); en cette circonstance, ce village perdit son nom arabe et prit le nom de Pasteur.

3° Médaillon en bronze par PATEY, d'après la médaille de ROTY, placé à l'École Normale, rue d'Ulm, 45, sur le mur externe du laboratoire où PASTEUR a accompli ses principaux travaux. Au-dessous se voit une plaque de marbre avec cette inscription :

Ici fut | le laboratoire | de | Pasteur | 1857 | fermentations | 1860 | générations spontanées | 1865 | maladies des vins | et des bieres | 1868 | maladies des Vers à soie | 1881 | virus et vaccins | 1885 | prophylaxie de la rage | 1864-1888 | Délibération | du | Conseil municipal | 7 décembre 1894.

L'inauguration du médaillon et de la plaque eut lieu le 21 avril 1895.

4° Statue par Tony Noël, inaugurée à Alais (Gard) le 28 septembre 1896, en souvenir des services rendus à la sériciculture (pl. XI). Pasteur tient à la main une branche de Bruyère chargée de cocons.

5° Monument par Houdin, inauguré à Melun, le 28 novembre 1897, en souvenir des vaccinations charbonneuses. Une bergère offre une gerbe de fleurs des champs au buste de Pasteur (pl. XVII).

6° Statue à Buenos-Aires, inaugurée le 2 octobre 1898 et faisant pendant au groupe de l'Alsace-Lorraine. Ces deux monuments proviennent d'une souscription ouverte parmi la colonie française.

7° Statue par A. Cordonnier, inaugurée à Lille le 9 avril 1899, en commémoration des travaux de Pasteur sur les fermentations et sur la bière. Nous avons publié en son temps un compte-rendu de la cérémonie d'inauguration, ainsi qu'une photographie du monument (1).

8° Médaillon en bronze par Patey, le même qu'à l'École Normale, apposé en 1900 sur la maison que Pasteur habitait à Strasbourg, rue des Veaux, 3. Aucune inscription ; deux dates seulement : 1822-1895.

9° Statue par H. Daillion, inaugurée à Arbois (Jura), le 29 septembre 1901 (pl. XII-XIV).

10° Le jour même où l'on inaugurait le monument précédent, la municipalité de la ville d'Arbois faisait apposer sur la maison, qui appartient aujourd'hui à Mme Pasteur, une plaque de marbre blanc portant ces mots :

MAISON PATERNELLE DE PASTEUR.

11° Statue par A. Carlès, inaugurée à Dole (Jura), ville natale de Pasteur , le 3 août 1902. Nous avons publié en son temps un compte-rendu de la cérémonie, ainsi que diverses vues du monument (2).

12° Fontaine Pasteur, ornée d'un buste par Paul Dubois (pl. XV) et placée à l'entrée du lycée de Besançon, où Pasteur fut élève de philosophie et maître d'études. L'inauguration eut lieu le 17 août 1902.

13° Monument par Paul Richer, inauguré à Chartres le 7 juin 1903, en souvenir des travaux de Pasteur sur les maladies infectieuses en général et le charbon en particulier. Le compte-rendu de la cérémonie d'inauguration, ainsi que diverses vues du monument se trouvent dans le présent volume (p. 587 et pl. IX-X).

14° Monument par F. Chailloux, inauguré à Marnes-la-Coquette le 12 juillet 1903, en commémoration des travaux de Pasteur sur la rage et de son séjour au domaine de Villeneuve-l'Etang, où il a rendu le dernier soupir. Nous avons donné, dans le présent volume, un compte-rendu de la cérémonie d'inauguration (p. 616) et une vue du monument (pl. XVI).

15° Statue par Hugues, placée dans la cour d'honneur de la Sorbonne. Pasteur est représenté assis, tenant à la main un ballon de laboratoire (pl. XVIII). Il n'y a pas eu d'inauguration.

16° Bientôt enfin sera inauguré à Paris, sur l'emplacement du puits artésien de Grenelle, un monument véritablement triomphal. Nous rendrons compte de cette cérémonie, qui sera particulièrement grandiose.

(1) *Archives de Parasitologie*, II, p. 303-308, 1899.
(2) *Ibidem*, VI, p. 474-506, 1902.

NOTES ET INFORMATIONS

Le Professeur Nocard. — Le Professeur Nocard, de l'Ecole vétérinaire d'Alfort, l'éminent bactériologiste, un des élèves préférés et l'un des collaborateurs de la première heure de Pasteur, a succombé dans la soirée du 2 août 1903 aux atteintes d'une courte maladie. Il était âgé de cinquante-trois ans à peine. Rien ne permettait de prévoir une fin aussi brusque, car, bien qu'éprouvé à diverses reprises, au cours de l'hiver dernier, par des attaques d'influenza, le Professeur Nocard paraissait jouir d'une santé solide et même florissante. Il y a quelques semaines à peine, il ressentit les premiers symptômes de la grave affection cardiaque à laquelle il a succombé. En dépit des soins qui lui ont été prodigués par ses collègues des grands corps savants, ses amis de l'Institut Pasteur, et son beau-frère, le Dr Josias, membre de l'Académie de médecine, le distingué médecin des hôpitaux de Paris, il s'est éteint à Saint-Maurice, où il résidait, à proximité de cette Ecole d'Alfort à la gloire et à la prospérité de laquelle il a consacré le meilleur de sa vie.

Edmond-Isidore-Etienne Nocard était né à Provins (Seine-et-Marne), le 29 janvier 1850. Elève de l'École vétérinaire d'Alfort en 1868, chef de service en 1878, titulaire l'année suivante de la chaire de pathologie contagieuse des animaux et de police sanitaire, il avait été nommé à la direction de cet établissement en 1889, et avait exercé ces fonctions pendant plusieurs années, jusqu'au jour où, absorbé par ses travaux multiples, il se démit pour se consacrer uniquement à ses recherches de clinique et de laboratoire.

Au cours de cette brillante carrière il avait été nommé successivement membre de la Société centrale des médecins vétérinaires, du Comité des épizooties, du Comité d'hygiène et de salubrité de la Seine, etc., enfin membre de l'Académie de médecine en 1886 en remplacement de Henry Bouley. L'Institut, qui le guettait depuis longtemps, lui réservait la première place vacante dans la section d'économie rurale.

L'œuvre scientifique de Nocard est aussi grande que variée. Les résultats de la mission scientifique que, sur l'invitation de Pasteur, il remplit en Egypte avec Roux, le regretté professeur Straus et le pauvre Thuillier mort, on le sait, victime du choléra à Alexandrie; la découverte qu'il fit du microbe du farcin du Bœuf et du Bacille de la mammite contagieuse des bêtes à cornes; les expériences, toutes d'une rigueur scientifique impeccable, qu'il entreprit pour déceler la tuberculose latente chez les Bovidés, les Vaches laitières en particulier; ses études sur la morve et la plupart des maladies contagieuses ou virulentes, sur la péripneumonie et enfin la fièvre aphteuse dont, annonçait-il dans une conférence du 12 mars 1903, il était à la veille de faire connaître publiquement le remède,

tout cela met sans conteste NOCARD au rang des plus éminents bactériologistes de l'école de PASTEUR.

Si sa réputation était grande chez nous et dans nos Sociétés savantes, nulle voix, parlant au nom de la science française, n'était plus écoutée que la sienne à l'étranger. On se rappelle son intervention dans la plupart des questions qui ont été portées à l'ordre du jour des grands Congrès internationaux de Paris, de Berlin, de Londres, etc., et notamment ses luttes et ses controverses retentissantes avec KOCH, le bactériologiste allemand, contre lequel il soutint, en s'appuyant sur des expériences françaises, entre autres celles de M. CHAUVEAU, qu'il est possible d'infecter des Bovidés en leur inoculant des produits tuberculeux empruntés à l'Homme. Ces déclarations, qui n'étaient rien moins que la réfutation d'une partie des théories de KOCH sur la propagation de la tuberculose à l'Homme par le lait ou la chair des animaux, eurent alors un retentissement considérable.

Que de choses encore à dire, si nous n'étions limités ici, sur l'œuvre scientifique de NOCARD dans le domaine de la physiologie et de la bactériologie !

Le Professeur NOCARD meurt dans la plénitude de sa puissance intellectuelle et après avoir parcouru une partie seulement de la brillante carrière que tout annonçait devoir être des plus fécondes. Sa perte sera douloureusement ressentie par le monde scientifique de tous les pays où le savant ne comptait que des amis sincères et des admirateurs. — C (HARLIER)-T (ABUR), *Le Temps* du 4 août 1903.

Souscription pour l'érection d'un monument au Professeur Nocard. — Un groupe d'amis et d'élèves du Professeur NOCARD a conçu le projet d'élever un monument à la mémoire de ce regretté maître.

Par la haute valeur de son œuvre, par l'importance des services rendus, par la dignité de sa vie, NOCARD a bien mérité cet hommage.

Le monument sera érigé à Alfort, à proximité du laboratoire où NOCARD travailla sans relâche pendant vingt-cinq années et où il réalisa de si importantes découvertes.

Adresser le montant des souscriptions à M. MOLLEREAU, médecin-vétérinaire, trésorier du Comité, rue de Paris, 63, à Charenton (Seine).

Les *Archives de Parasitologie* s'inscrivent pour quarante francs.

La maladie du sommeil ; mission du Dr E. Brumpt. — Le Dr CASTELLANI, envoyé en mission dans l'Ouganda par l'Ecole de médecine tropicale de Londres, a récemment découvert que la maladie du sommeil est causée par un Trypanosome qui vit dans le liquide cérébro-spinal des nègres atteints de cette affection. Le colonel BRUCE, à qui l'on doit la découverte du Trypanosome du nagana, a contrôlé la découverte de CASTELLANI : dans 38 cas de maladie du sommeil, il a toujours trouvé le Trypanosome dans le liquide cérébro-spinal obtenu par la ponction lombaire ; il a également constaté sa présence dans le sang, 12 fois sur 13 cas de maladie du sommeil.

Le *Trypanosoma Brucei*, du nagana, étant inoculé par la piqûre de la

Tsétsé (*Glossina morsitans*), il est presque certain que ce sont aussi des Mouches du même genre qui véhiculent le *Tr. Castellanii*, de la maladie du sommeil. Pour élucider l'étiologie et la prophylaxie de cette affection, qui a causé depuis deux ans des épidémies extrêmement meurtrières, il ne reste donc plus qu'à rechercher l'animal qui en transmet le germe et à déterminer les conditions ordinaires de sa propagation.

La question est donc posée avec une netteté particulière. Il m'a semblé que la science française était intéressée à sa solution et, dans sa séance du 18 juin 1903, j'ai proposé à la Commission administrative de l'Institut de médecine coloniale, 1° d'émettre un vœu en ce sens, 2° de charger le Dr Brumpt d'une mission en Afrique, 3° de mettre une certaine somme à sa disposition.

La Commission, vu la modicité du budget de l'Institut, n'a pu malheureusement adopter cette dernière proposition, mais elle a pris, à l'unanimité, la résolution suivante :

« Considérant les ravages croissants qu'exerce la maladie du sommeil dans la région congolaise et l'intérêt considérable qui, au point de vue de l'avenir des colonies, s'attache à l'étude des causes et de la propagation de cette redoutable maladie, le Comité, à l'unanimité, émet le vœu que le Ministère des Colonies veuille bien confier une mission, ayant pour but d'étudier sur place les modes de contagion de la maladie du sommeil, à M. le Dr Brumpt, chef de laboratoire à l'Institut de médecine coloniale, qui est désigné tout particulièrement par ses connaissances en médecine africaine, en parasitologie et en histoire naturelle. »

Conformément à cette délibération, MM. P. Brouardel et R. Blanchard ont rendu visite à M. le Ministre des Colonies, le 27 juin, pour solliciter son bienveillant appui. D'autres démarches ont été faites aussi auprès de diverses administrations, sociétés savantes, compagnies de colonisation, sans que l'intérêt, dans plus d'un cas, se soit manifesté autrement que par de bonnes paroles.

Bref, le Dr Brumpt, chargé d'une mission *gratuite* par le Ministère de l'Instruction publique, s'est embarqué à Anvers, le 23 juillet. L'Institut de médecine coloniale n'avait pu recueillir pour sa mission qu'une somme de 7.800 fr., dont 6.300 seulement ont été versés, savoir :

De M. le Prof. R. Blanchard (fonds spéciaux)	1.500
De M. le Prof. Proust (fonds spéciaux)	1.000
De M. le Dr Würtz (fonds spéciaux).	2.000
Du Ministère des Colonies (non versés).	1.500
Du Comité de l'Afrique française.	500
De la Compagnie de Suez	1.000
De la Société des Sultanats du Haut-Oubanghi	300

Un pareil résultat est profondément attristant : il démontre bien l'incurie générale, en face de questions aussi importantes que celle qu'il s'agissait de résoudre. Raison de plus pour adresser nos plus vives félicitations aux Administrations et Compagnies qui ont voulu, dans la mesure de leurs forces, contribuer à la solution attendue.

— M. Brumpt est revenu à Paris, le 18 octobre, après avoir observé dans le Bas-Congo un assez grand nombre de malades. Il a ramené trois de ceux-ci, qui ont été présentés à l'Académie de médecine, puis ont été hospitalités à l'hôpital de l'Association des Dames Françaises. Ils sont actuellement l'objet des études les plus attentives et servent à l'instruction des élèves qui suivent les cours de l'Institut de médecine coloniale.

Ils ont d'ailleurs excité la plus vive curiosité parmi le public médical. Ils ont été visités, non seulement par un grand nombre de médecins parisiens, mais encore par Sir Patrick Manson, le Dr J. Cantlie, le Dr A. Castellani et le Dr Low, venus exprès de Londres, par le Dr Annett, de Liverpool, par le Dr Nocht, de Hambourg, et par le Prof. Gaffky, de Giessen.

NOTA D'AGGIUNGERSI ALLA MEMORIA

della Signorina Dott. A. FOÀ

Per un disgraziato errore fu inviato all' Istituto di Anatomia comparata il n° 2 degli *Annales de l'Institut Pasteur* del 1902, invece del numero corrispondente del 1903, così che non ho saputo nulla dell' importante Memoria di Borrel, ivi pubblicata.

Leggendo ora tale Memoria, rilevo con piacere che le conclusioni di Borrel concordano in massima colle mie, inquanto che anch' egli ritiene che l'immensa maggioranza delle formazioni intra-epiteliali descritte come parassiti nel vaccino e nella *clavelée*, rappresentino tutt'altra cosa.

La Memoria di Borrel è stata pubblicata nel numero degli *Annales de l'Institut Pasteur* uscito colla data 29 febbraio 1903; i resultati delle mie ricerche erano già stati comunicati in una Nota preliminare « Studio sui *Cytoryctes vaccinae* » presentata all' Accademia dei Lincei il 18 gennaio 1903, ed uscita pochi giorni dopo.

Anna Foà.

ERRATUM

Page 148, lignes 13-14, en remontant, lire : *dans la vésicule biliaire.*

OUVRAGES REÇUS

Tous les ouvrages reçus sont annoncés.

Hémosporidies et Paludisme

J. Crespin, L'Hématozoaire de la malaria, ses diverses formes envisagees au point de vue de leur correspondance en clinique. *Gazette des hôpitaux*, in-8° de 19 p., 25 avril 1903.

J. Crespin, Pathogénie des accès et accidents pernicieux d'origine paludéenne. *Le Caducée*, in-8° de 18 p., 2 mai 1903.

B. Galli-Valerio et J. Rochaz de Jongh, Etudes relatives à la malaria. La distribution des *Anopheles* dans le canton du Valais en relation avec les anciens foyers de malaria. *Bulletin de la Société Vaudoise des sciences naturelles*, (4), XXXIX, p. 101-113, 1903.

F. Huertas Barrero et G. Pittaluga, Résumé du rapport sur l'étiologie et la prophylaxie du paludisme. *XIVe Congrès internat. de méd.*, p. 7-23, avril 1903.

A. Laveran, *Anopheles* et paludisme. *C. R. Acad. des sc.*, CXXXVI, p. 853-858, 6 avril 1903.

G.-H.-F. Nuttall, Studies in relation to malaria. — II. The structure and biology of *Anopheles* (*Anopheles maculipennis* Meigen). *Journal of Hygiene*, III. p. 166-215, pl. VI-IX, avril, 1903.

R. Ross, An improved method for the microscopical diagnosis of intermittent fever. *The Lancet*, in-8° de 4 p., january 10, 1903.

F. Schaudinn, Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. *Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamte*, XIX, n° 3, p. 547-576, 1903.

Siegel, Die geschlechtliche Entwicklung von *Hæmogregarina Stepanovi* im Rüsselegel, *Placobdella catenigera*. *Archiv für Protistenkunde*, II, p. 339-342, 1903.

Helminthologie en général

A. Chaumont, *De l'helminthiase dans ses rapports avec les maladies infectieuses*. Thèse de Paris, in-8° de 72 p., 1903.

O. von Linstow, Parasiten, meistens Helminthen, aus Siam. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, LXII, p. 108-121, taf. V, 1903.

Ch. W. Stiles, Further investigations on verminous diseases of Cattle, Sheep, and Goats in Texas. *Eighteenth Annual Report of the Bureau of Animal Industry*, p. 223-229, Washington. 1901.

Cestodes

W. Asam, *Tænia cucumerina* bei einem Kinde. *Münchener med. Woch.*, n° 8, in-8° de 4 p., 1903.

F. Dévé, Sur les rapports des kystes hydatiques du foie avec le système veineux cave. *Bull. de la Société anatomique*, in-8° de 30 p., mars 1903.

G. Lemaire, *De la fréquence des kystes hydatiques du poumon et de la plèvre en Algérie, leur diagnostic*. Thèse de Paris, in-8° de 102 p., 1903.

S. V. de Léon L., *Contribution à l'étude des Cysticerques de l'encéphale*. Thèse de Paris, in-8° de 79 p., 1903.

H. LHUILLIER, *De la rétention d'urine dans les kystes hydatiques du petit bassin*. Thèse de Paris, in-8° de 93 p., 1903.

E. QUÉNU, Kystes hydatiques du foie. Technique opératoire contre l'échinococcose secondaire. *Bull. et Mém. de la Soc. de chirurgie*, XXIX, p. 719-729, 1903.

T.-B. ROSSETER, On the anatomy of *Drepanidotænia tenuirostris*. *Journal of the Quekett microscopical Club*, (2), VIII, p. 399-406, pl. XX, avril 1903.

Trématodes

W. A. HASWELL, On two remarkable Sporocysts occurring in *Mytilus latus*, on the coast of New-Zealand. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, p. 497-515, 1902.

L. A. JÄGERSKIÖLD, *Scaphanocephalus expansus* (Crepl.), eine genitalnapftragende Distomide. *Results of the Swedish Zoological Expedition to Egypt and the White Nile 1901*, in-8° de 16 p., 1 pl.

Fr. S. MONTICELLI, *Temnocephala microdactyla*, n. sp. *Bollettino dei Musei di zoologia ed anat. comp. della R. Università di Torino*, XVIII, n° 439, in-8° de 3 p., 10 marzo 1903.

C. PARONA e Fr. S. MONTICELLI, Sul genere *Ancyrocotyle* (n. g.). *Archives de Parasitologie*, VII, p. 117-121, pl. III, 1903.

Ch. W. STILES, Frogs, Toads, and Carp (*Cyprinus carpio*) as eradicators of of Fluke disease. *Eighteenth Annual Report of the Bureau of Animal Industry*, Washington. p. 220-222, 1901.

P. FABRE, *Du rôle des Entozoaires et en particulier des Anchylostomes dans la pathologie des mineurs*. Paris, in-8° de 48 p., 1 pl., 1884.

G.-C. LOW, *Filaria perstans*. *British medical Journal*, in-8° de 8 p., 28 march 1903.

A. RAILLIET et A. HENRY, Une forme larvaire de l'Oxyure du Cheval. *Archives de Parasitologie*, VII, p. 133-137, 1903.

H.-B. WARD, *Nematoda*. *Reference Handbook of med. sci.*, *Rev. ed.*, VI, p. 205-225, 1903.

CH. W. STILES, The significance of the recent american cases of Hookworm disease (Uncinariasis, or Anchylostomiasis) in Man. *Eighteenth Annual Report of the Bureau of Animal Industry*, Washington, p. 183-222, 1901.

CH. W. STILES and Ch. A. PFENDER, The failure of thymol to expel Whipworms (*Trichuris depressiuscula*) from Dogs. *The Journal of comp. med. and veterinary Archives*, XXIII, p. 733-740, december 1902.

CH. W. STILES and Al. HASSALL, *Strongyloides stercoralis*, the correct name of the parasite of Cochin China diarrhea. *American Medicine*, IV, p. 343, august 30, 1902.

Hirudinées

P. FABRE, *Hémorrhagie artérielle produite par une piqûre de Sangsue*. Paris, in-8° de 8 p., 1883.

P. FABRE, Un cas d'urticaire consécutif à l'application de Sangsues. *Le Centre médical et pharmaceutique*, III, p. 211-212, 1er mai 1893.

Acariens

P. FABRE, La gale dans les campagnes. Un desideratum en médecine publique. *Revue d'hygiene*, in-8° de 6 p., 1881.

C. TIRABOSCHI, Sopra alcune specie nuove di ectoparassiti dei Muridi. *Communicazione fatta alla Soc. zool. ital. con sede in Roma*, in-8° de 3 p., 1903.

Insectes

R. Blanchard et L. Dyé, Notes sur les Moustiques de la Côte d'Ivoire. *C. R. Soc. biol.*, LV, p. 570-572, 1903.

P. Fabre, Troubles consécutifs à une piqûre de Bourdon. *Le Centre médical et pharmaceutique*, V, p. 111-113, décembre 1899.

P. Fabre, *Sur les mélanodermies phthiriasiques*. Paris, in-8° de 13 p., 1902.

J. J. Kieffer, Notice critique sur le catalogue des Zoocécidies de MM. Darboux, Houard et Giard. *Bull. de la Soc. d'hist. nat. de Metz*, XXII, p. 79-90, 1902.

C. Tiraboschi, La Chique des Oiseaux (*Sarcopsylla gallinacea* Westw.) observée en Europe. *Archives de Parasitologie*, VII, p. 124-132, 1903.

C. Tiraboschi, Gli Animali propagatori della peste bubonica. 1° nota. Le Pulci dei Ratti e dei Sorci. *Hystrichopsylla tripectinata*, nova sp. *Società zool. italiana*, Roma, in-8° de 12 p., 1 pl., 1903.

J. Wagner, *Stratiomyia Plèskei*, n. sp., eine neue *Stratiomyia*-Art aus Turkestan. *Sitzungsber. der naturf. Gesell.*, XIII, p. 108-109.

J. Wagner, Aphanipterologische Studien. — II. Drei neue *Puliciden*, nebst Bemerkung über die Gattung *Typhlopsylla* Tasch. *Horae Soc. ent. ross.*, XXVII, p. 347-358, pl. VI, Saint-Pétersbourg, 1893.

J. Wagner, Aphanipterologische Studien. — III. Ueber die Gattung *Pulex* und Beschreibung neuer Arten der Gattungen *Ceratophyllus*, *Ctenopsylla*, *Ceratopsylla* und *Typhlopsylla*. *Horae Soc. ent. ross.*, XXXI, p. 555-594, pl. VIII-X, Saint-Pétersbourg, 1898.

J. Wagner, Notiz über die *Ceratophyllus*-Arten (*Aphaniptera*), welche auf den Zieseln leben. *Revue russe d'entomologie*, p. 325-327, décembre 1902.

J. Wagner, Beiträge zur Kenntnis der Vogelpuliciden. *Horae Soc. entom. rossicae*, XXXVI, p. 278-293, pl. III-IV, 1903.

Venins

L. Camus et E. Gley, Recherches sur l'action physiologique du sérum d'Anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise. *Archives internat. de pharmacodynamie*, V, p. 247-305, 1898.

Bactériologie

Regulations for the sale of viruses, serums, toxins and analogous products in the district of Columbia, etc. *Treasury Department U. S. Public Health and Marine Hospital service*, Washington, in-8° de 8 p., february 1903.

P.-F. Armand-Delille, *Rôle des poisons du Bacille de Koch dans la méningite tuberculeuse et la tuberculose des centres nerveux. Etude experimentale et anatomo-pathologique*. Thèse de Paris, in-8° de 187 p., 3 pl., 1903.

V. Balthazard, *Toxine et antitoxine typhiques*. Thèse de Paris, in-8° de 240 p., 8 pl., 1903.

N. Batisse, *Des formes graves de la péritonite à Pneumocoques*. Thèse de Paris, in-8° de 56 p., 1903.

J. Binot, Sur un Bacille paratuberculeux isolé du beurre. *Archives de Parasitologie*, VII, p. 306-308, 1903.

Beyer, Notes anatomo-pathologiques au sujet d'un cas de lèpre exogène observé à Anvers. *Annales de la Soc. médico-chirurgicale d'Anvers*, in-8° de 23 p., janvier-mars 1903.

G. Coldefy, *Les accidents du sérum antidiphtérique*. Thèse de Paris in-8° de 163 p., 1903.

Ch. Decobert, *Du gélo-diagnostic des selles et de son emploi au diagnostic précoce de la fièvre typhoïde.* Thèse de Paris, in-8° de 36 p., 1903.

J. Delbos, *Etude clinique et expérimentale sur la diazoréaction d'Ehrlich.* Thèse de Paris, in-8° de 58 p., 1903.

F. Dubois, *Des injections préventives de sérum antidiphtérique pratiquées systématiquement.* Thèse de Paris, in-8° de 75 p., 1903.

L. Dyé, Les Moustiques et la fièvre jaune. *Renseignements coloniaux*, p. 149-161, 1903.

L. Dyé, Les Moustiques et la fièvre jaune. *Bulletin du Comité de l'Afrique française*, in-8° de 46 p., juin 1903.

P. Fabre, *Une épidémie d'oreillons à Commentry (1892).* Paris, in-8° de 12 p., 1903.

W. W. Ford, The classification and distribution of the intestinal Bacteria in Man. *Studies from the Royal Victoria Hospital*, I, pathology part 2, in-8° de 95 p., Montréal, may, 1903.

P. Gasching, *La putréfaction du lait, ses rapports avec la pathologie humaine.* Thèse de Paris, in-8° de 107 p., 1903.

L. Grimbert, Diagnostic des Bactéries par leurs fonctions bio-chimiques. *Archives de Parasitologie*, VII, p. 237-305, 1903.

L. Jouhaud, *Caractères biologiques de l'Entérocoque.* Thèse de Paris, in-8° de 155 p., 1903.

M. Loeper, *Mécanisme régulateur de la composition du sang.* Paris in-8° de 174 p., 1903.

P. Manson, The relation of the Panama canal to the introduction of yellow fever into Asia. *Epidemiological Society of London*, in-8° de 40 p., 1903

J. Martin-Saint-Laurent, *Le formol en thérapeutique, son application dans le traitement des séborrhées du cuir chevelu.* Thèse de Paris, in-8° de 60 p., 1903.

A. Paris, *Contribution à l'étude des modifications sanguines chez l'enfant diphtérique traité par le sérum antidiphtérique (résistance globulaire).* Thèse de Paris, in-8° de 159 p., 1903.

D.-B. Roncali, Intorno al processo della sostituzione fibrosa dei tuberculomi del cervello ed alla natura ed estensione delle alterazioni che negli elementi nervosi della corteccia determinano i tumori intracranici. *Archives de Parasitologie*, VII, p. 177-236, 2 pl., 1903.

F. Schaudinn, Beiträge zur Kenntniss der Bakterien und verwandter Organismen. — II. *Bacillus sporonema*, n. sp. *Archiv für Protistenkunde*, II, p. 421-444, Taf. XII, 1903.

C. Tiraboschi, Gli Animali propagatori della peste bubonica. 3ª nota. Caratteri distintivi del *Mus decumanus* Pall. e *Mus rattus* L. Diffusione del *Mus rattus* in Italia *Società zoologica italiana*, Roma, in-8° de 4 p., 1903.

C. Tiraboschi, Beitrag zur Kenntnis der Pestepidemiologie. Ratten, Mäuse und ihre Ektoparasiten. *Archiv für Hygiene*, XLVI, p. 251-263, 1903.

E. Zacchiri, *Recherches sur la généralisation du Bacille diphtérique. Étude clinique et bactériologique.* Thèse de Paris, in-8° de 135 p., 1903.

TABLE DES MATIÈRES

Le présent volume comprend 18 planches hors texte, 3 planches et 4 portraits dans le texte, 1 fac-simile d'écriture et 40 figures dans le texte.

Il a été publié en quatre fascicules :

1er fascicule, comprenant les pages 1 à 176, paru le 15 mars 1903 ;

2e fascicule, pages 177 à 312, paru le 10 mai 1903 ;

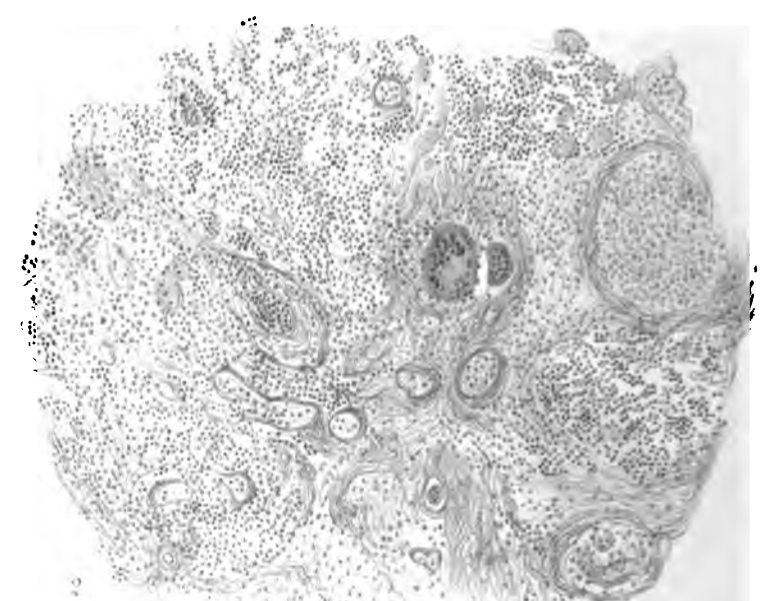
3e fascicule, pages 313 à 488, paru le 20 août 1903 ;

4e fascicule, pages 489 à 640, paru le 1er décembre 1903.

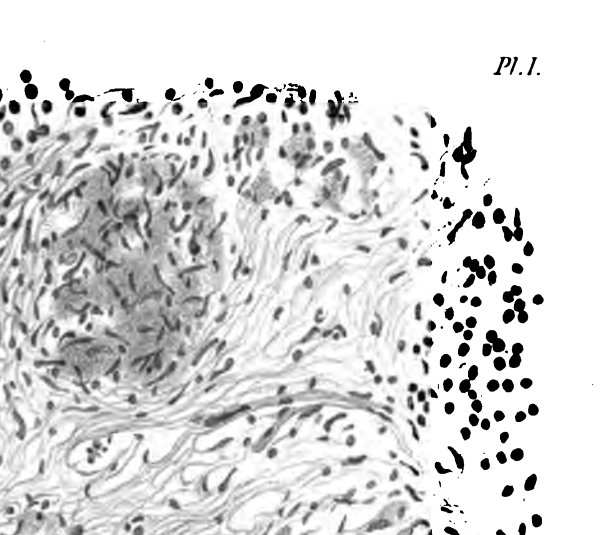
Le Gérant, F. R. DE RUDEVAL.

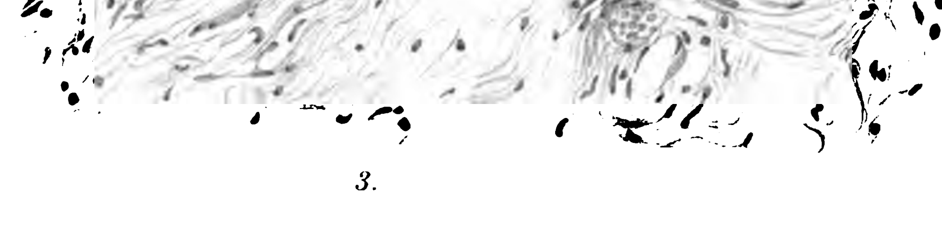
Lille — Typ. & Lith. Le Bigot frères

1.

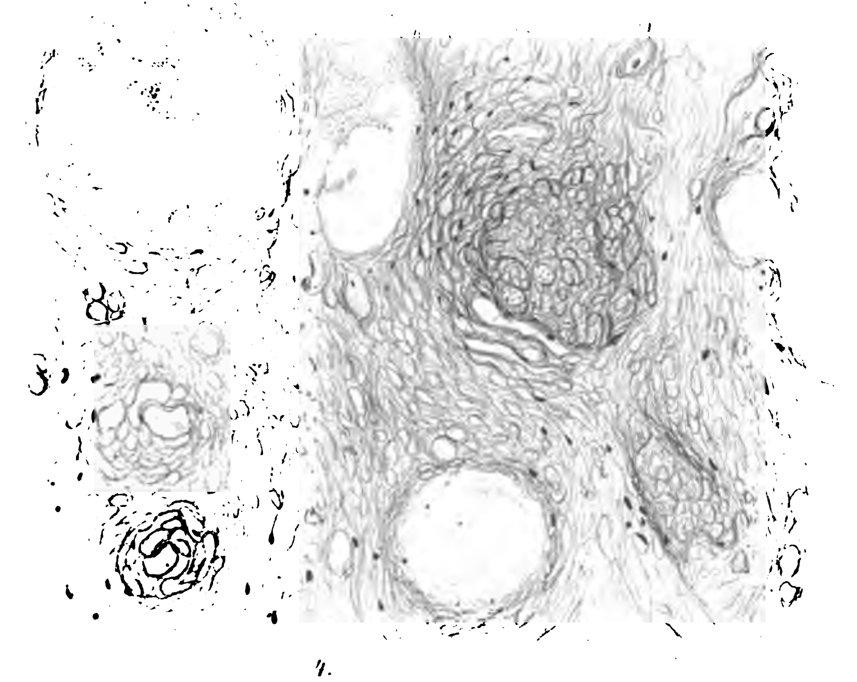


[illegible]





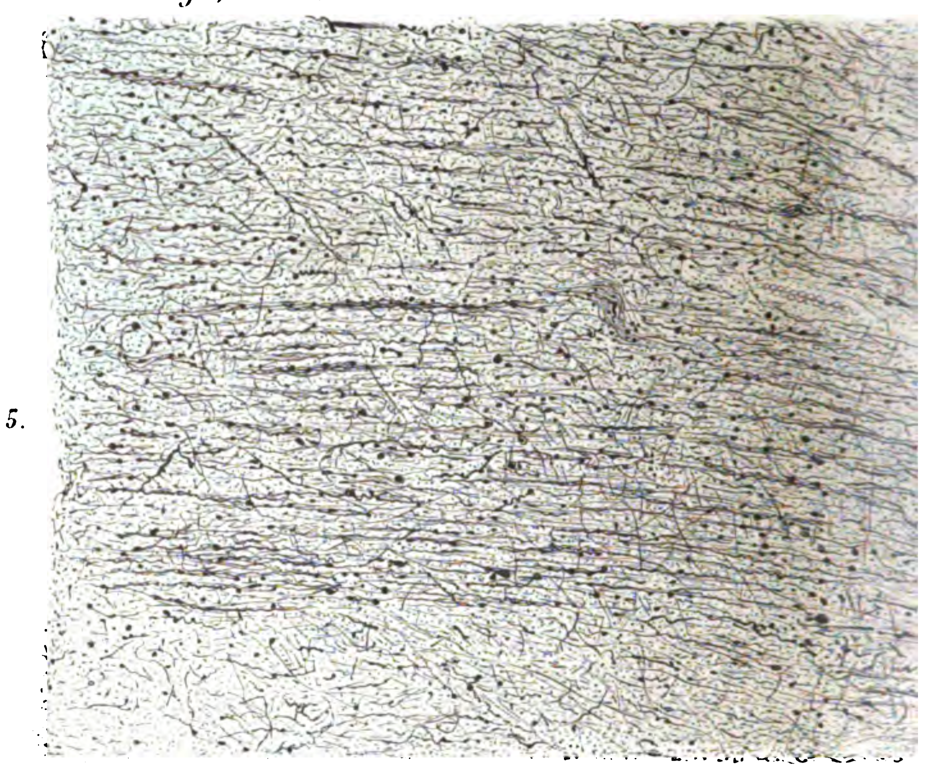
3.



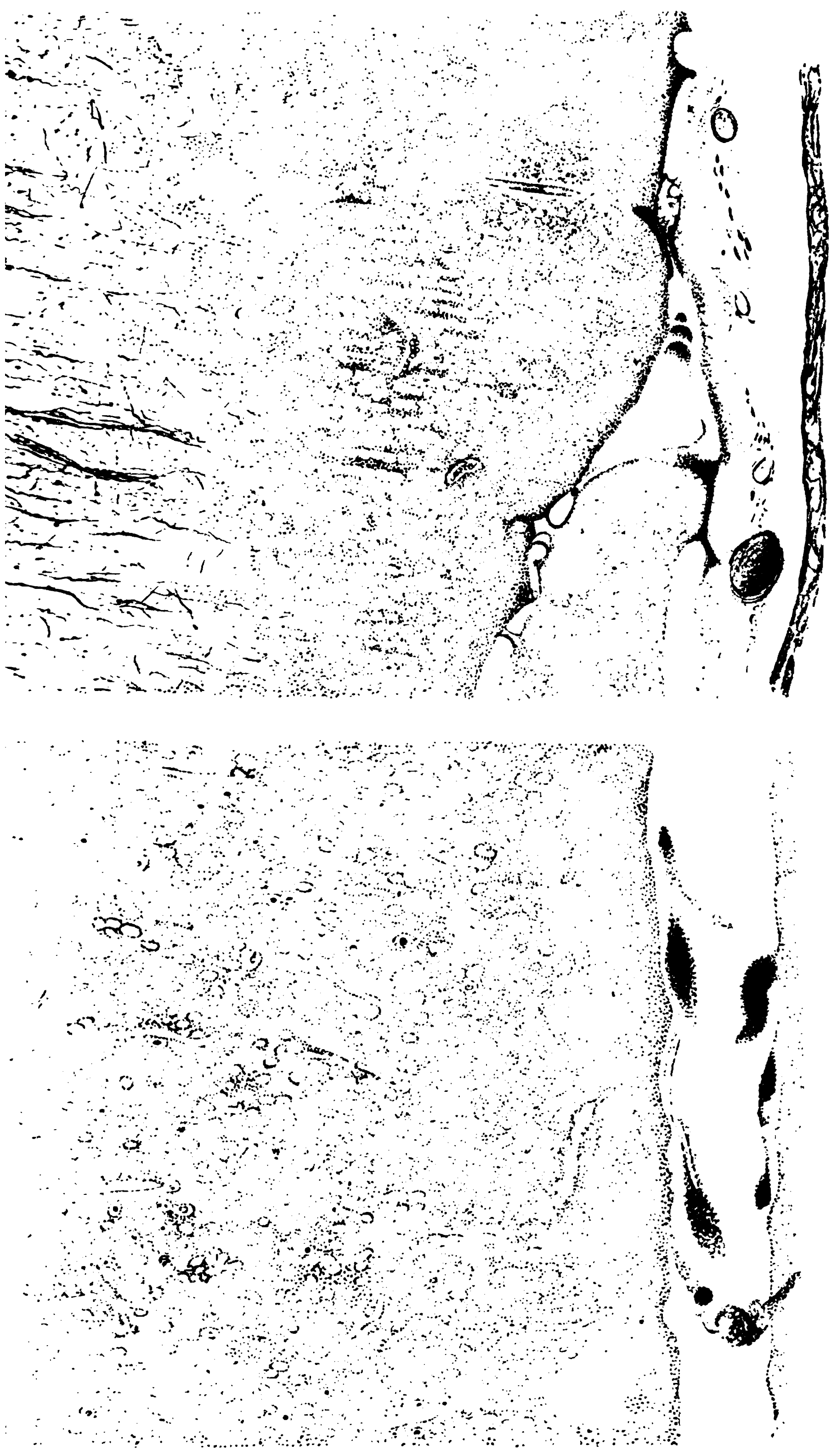
4.

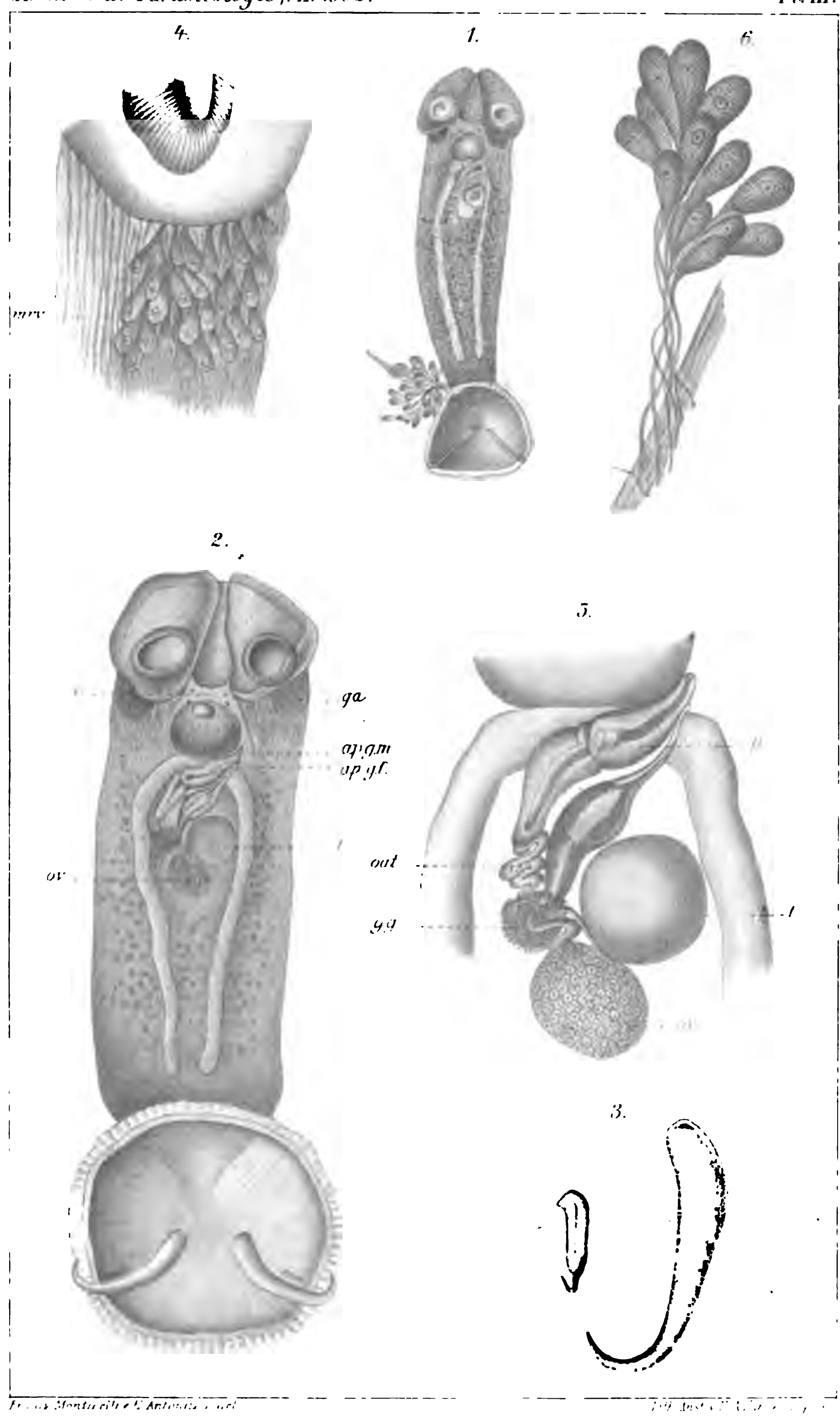
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

5.

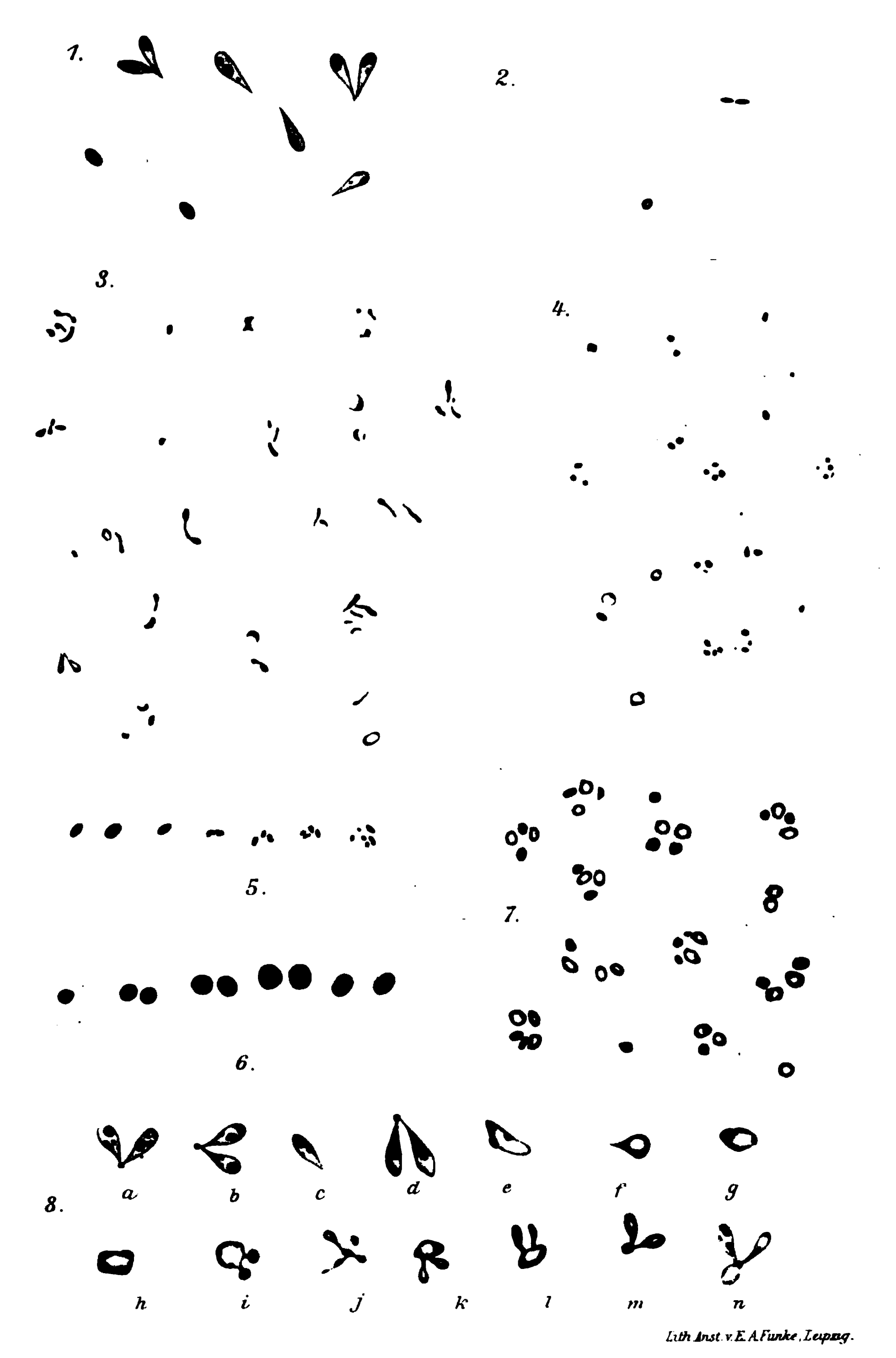


6.



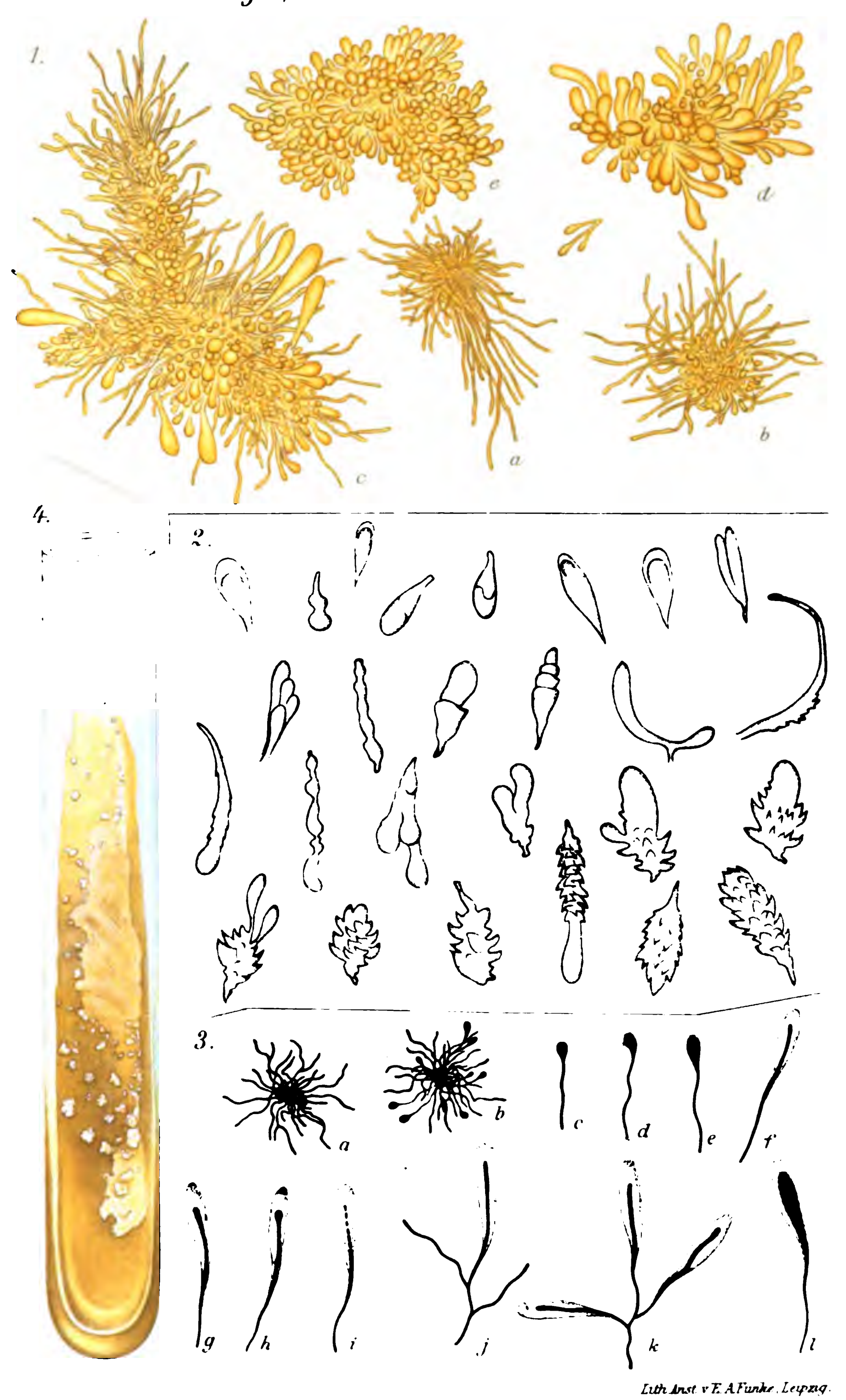


Sul genere Ancyrocotyle.



Lith. Inst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Piroplasmose bovine.



Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Actinophytose à Streptothrix Spitzi.

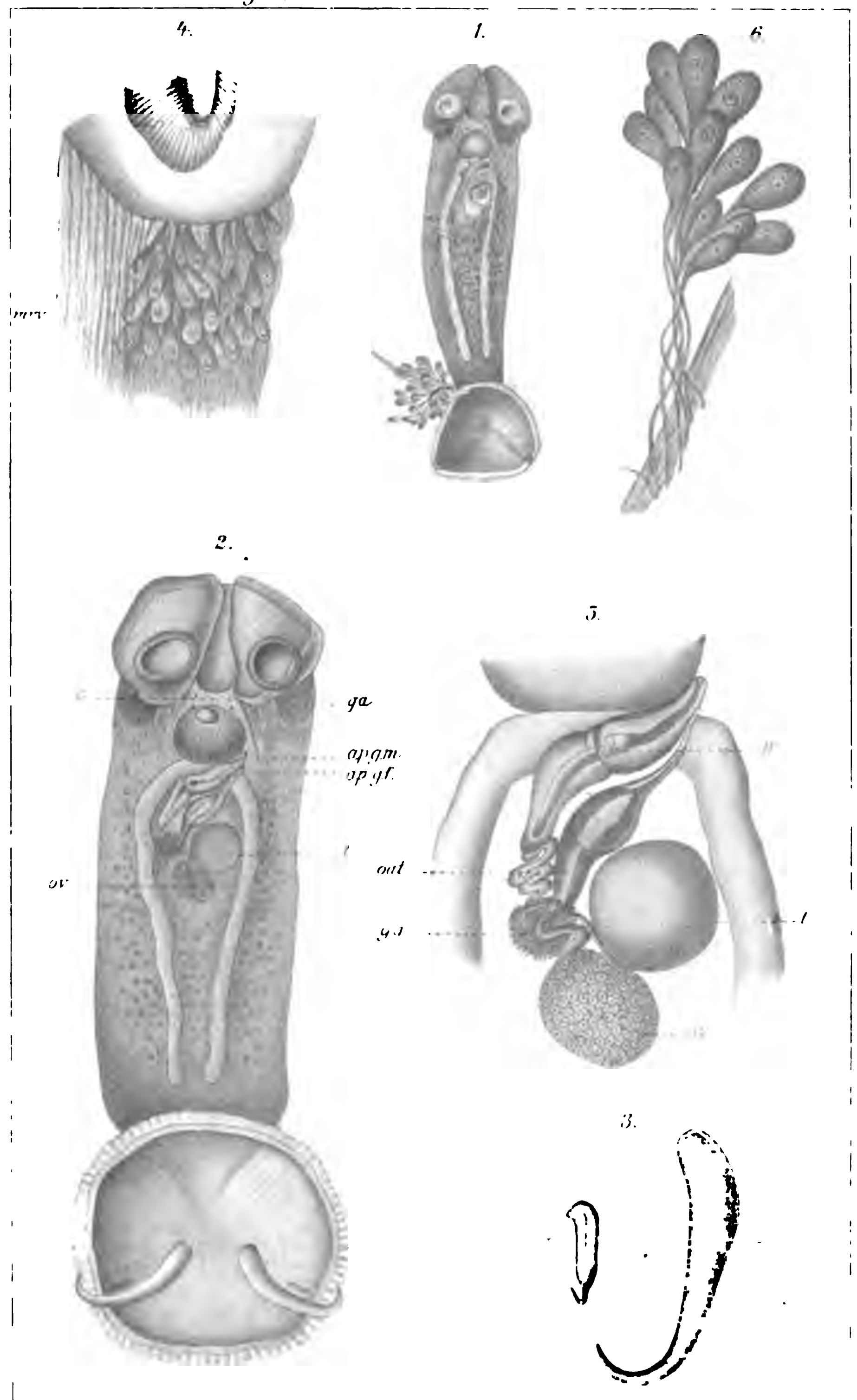


1. 2. 3. 4.

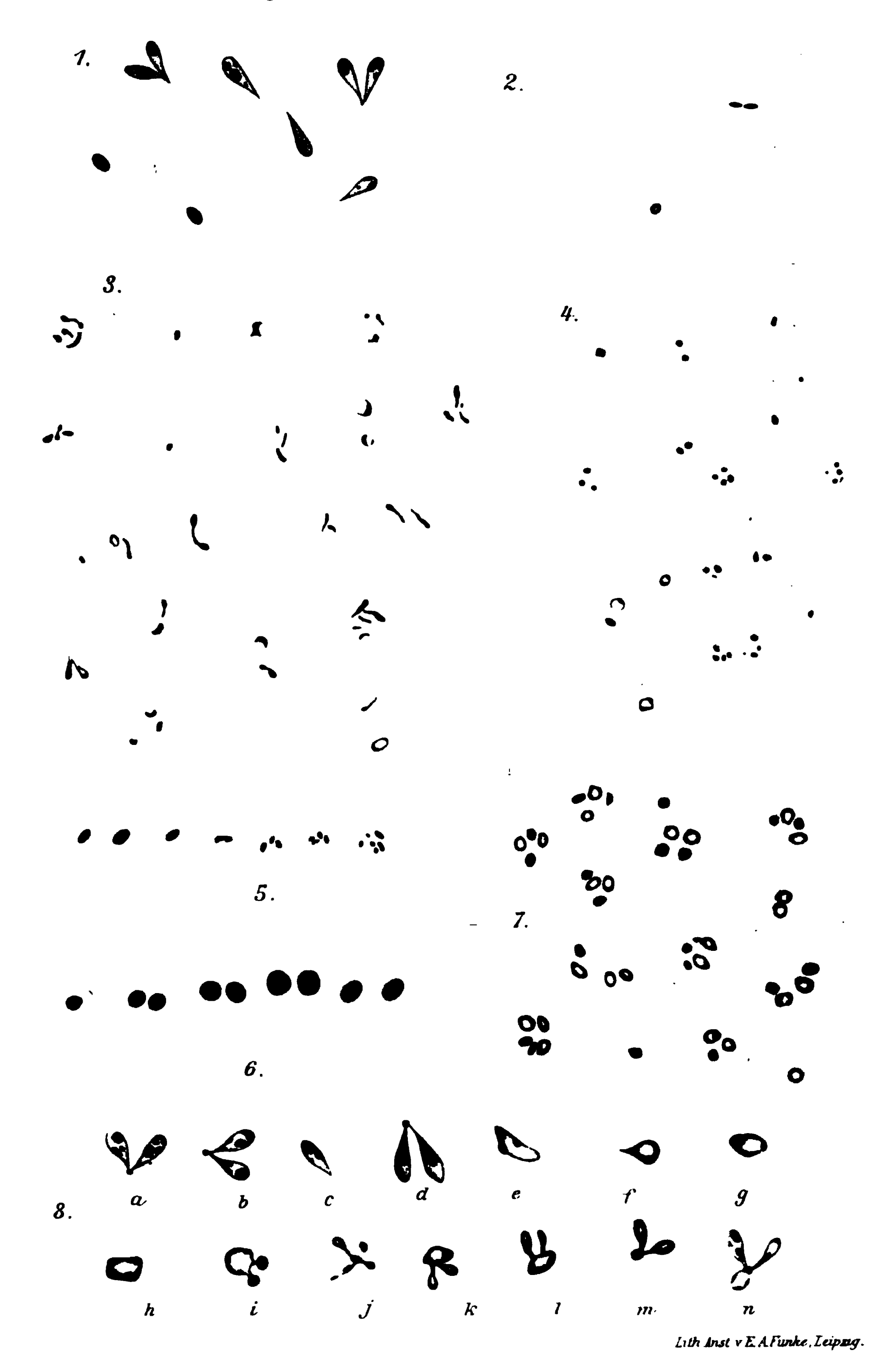
J. Charlot ad nat pinx

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Blastomycète du péritoine.

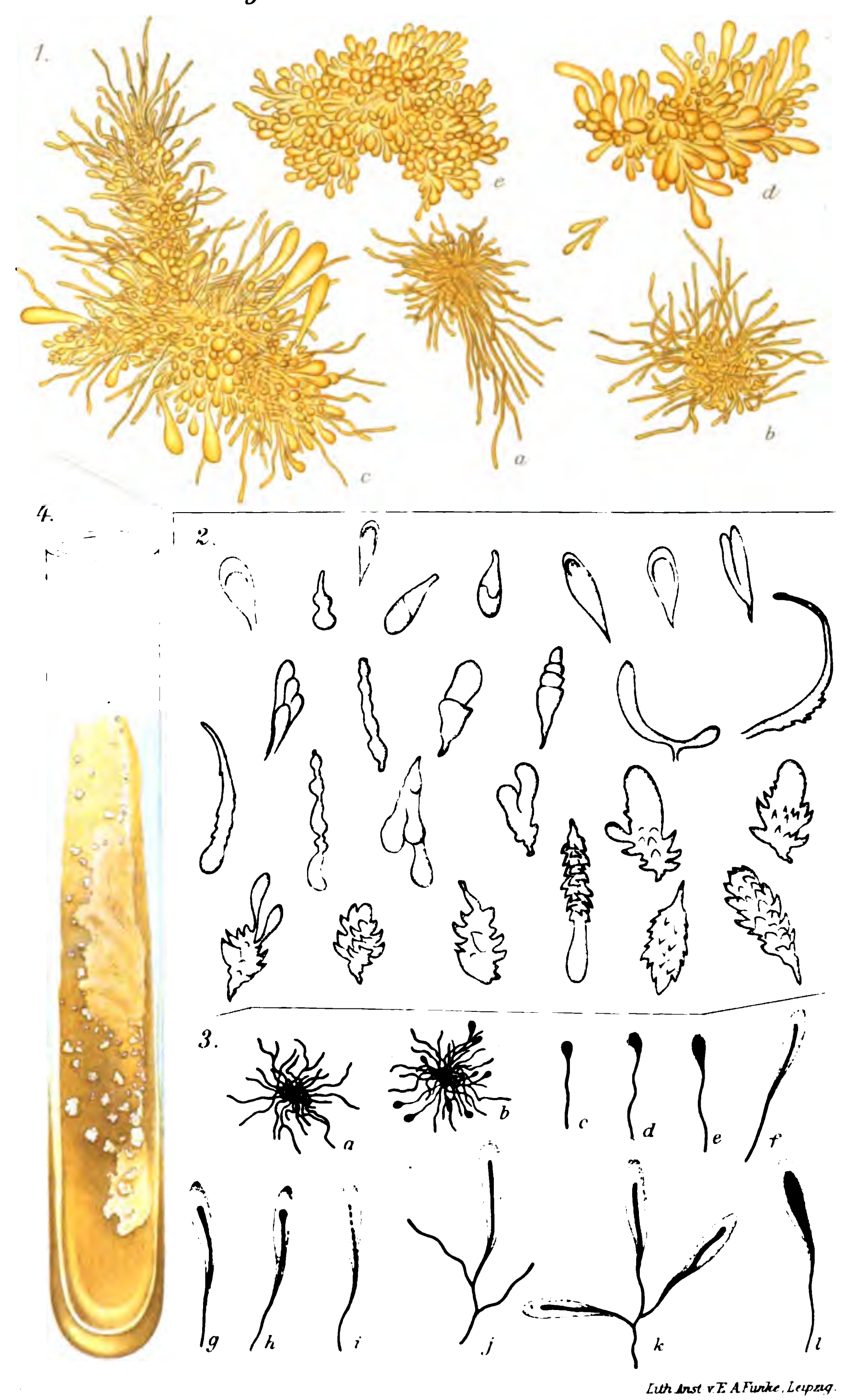


Sul genere Ancyrocotyle.



Lith Anst v E. A. Funke, Leipzig.

Piroplasmose bovine.



Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Actinophytose à Streptothrix Spitzi.

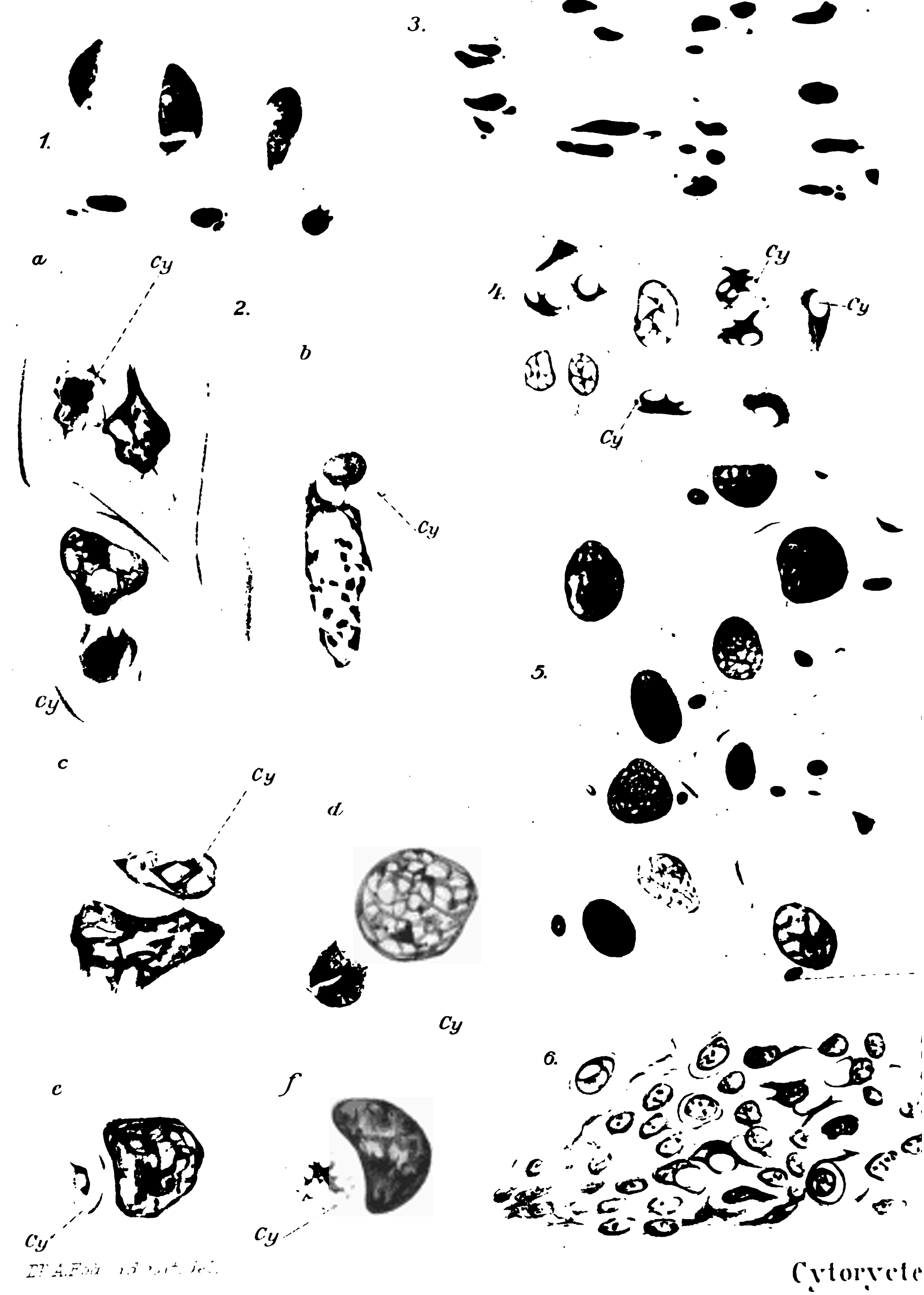


1. 2. 3. 4.

J Charlot ad nat pinx

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Blastomycète du péritoine.

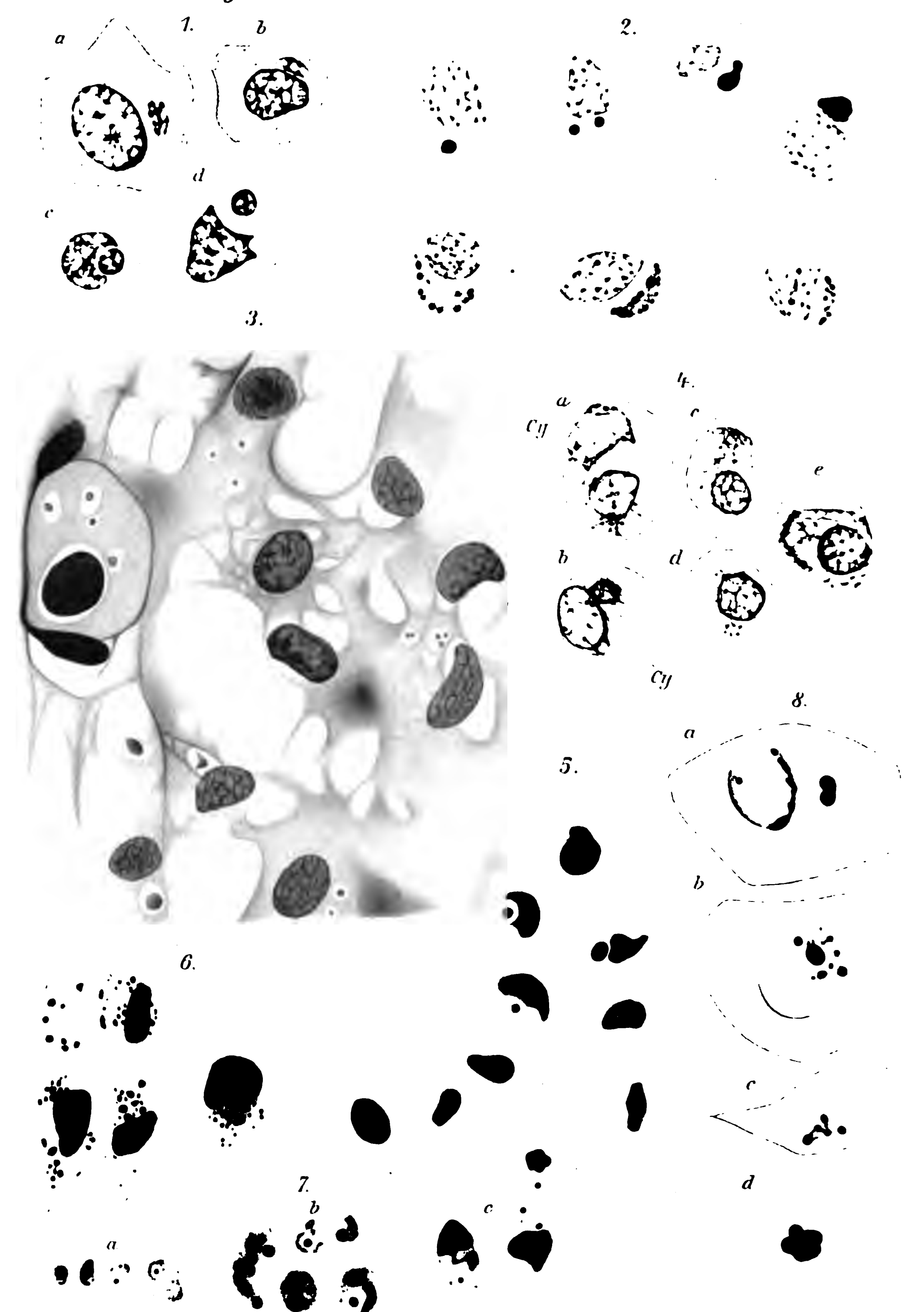


Cytoryctes

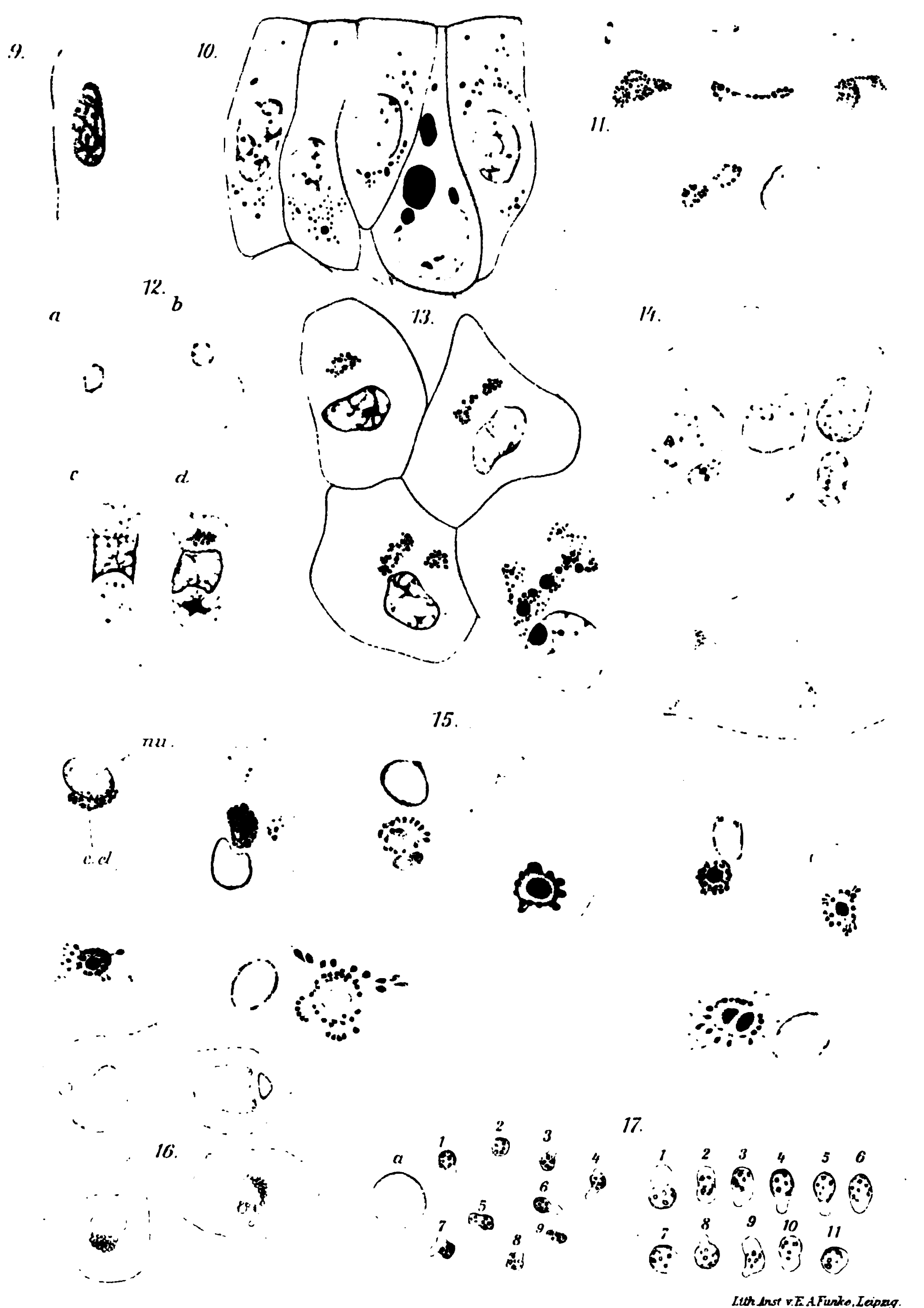


Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

vaccinae.



Cytoryct


9.
10.
11.
12.
a
b
c
d
13.
14.
15.
nu.
c. cl
16.
17.
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

s vaccinae.



MONUMENT DE PASTEUR A CHARTRES
PAR LE PROFESSEUR PAUL RICHER, DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE



BUSTE DE PASTEUR
par le Professeur Paul Richer.



STATUE DE PASTEUR PAR TONY NOËL
inaugurée à Alais en septembre 1896.



STATUE DE PASTEUR PAR H. DAILLION
inaugurée à Arbois en septembre 1901.



LE DOCTEUR E. ROUX INOCULE LE VIRUS ANTIRABIQUE

Bas-relief de la statue de Pasteur élevée par la ville d'Arbois.



LES BIENFAITS RENDUS PAR PASTEUR A L'AGRICULTURE

Bas-relief de la statue de Pasteur élevée par la ville d'Arbois.



BUSTE DE PASTEUR PAR PAUL DUBOIS
placé à l'entrée du Lycée de Besançon.



MONUMENT DE PASTEUR, PAR CHAILLOUX

Inauguré à Marnes-la-Coquette, le 12 juillet 1903.

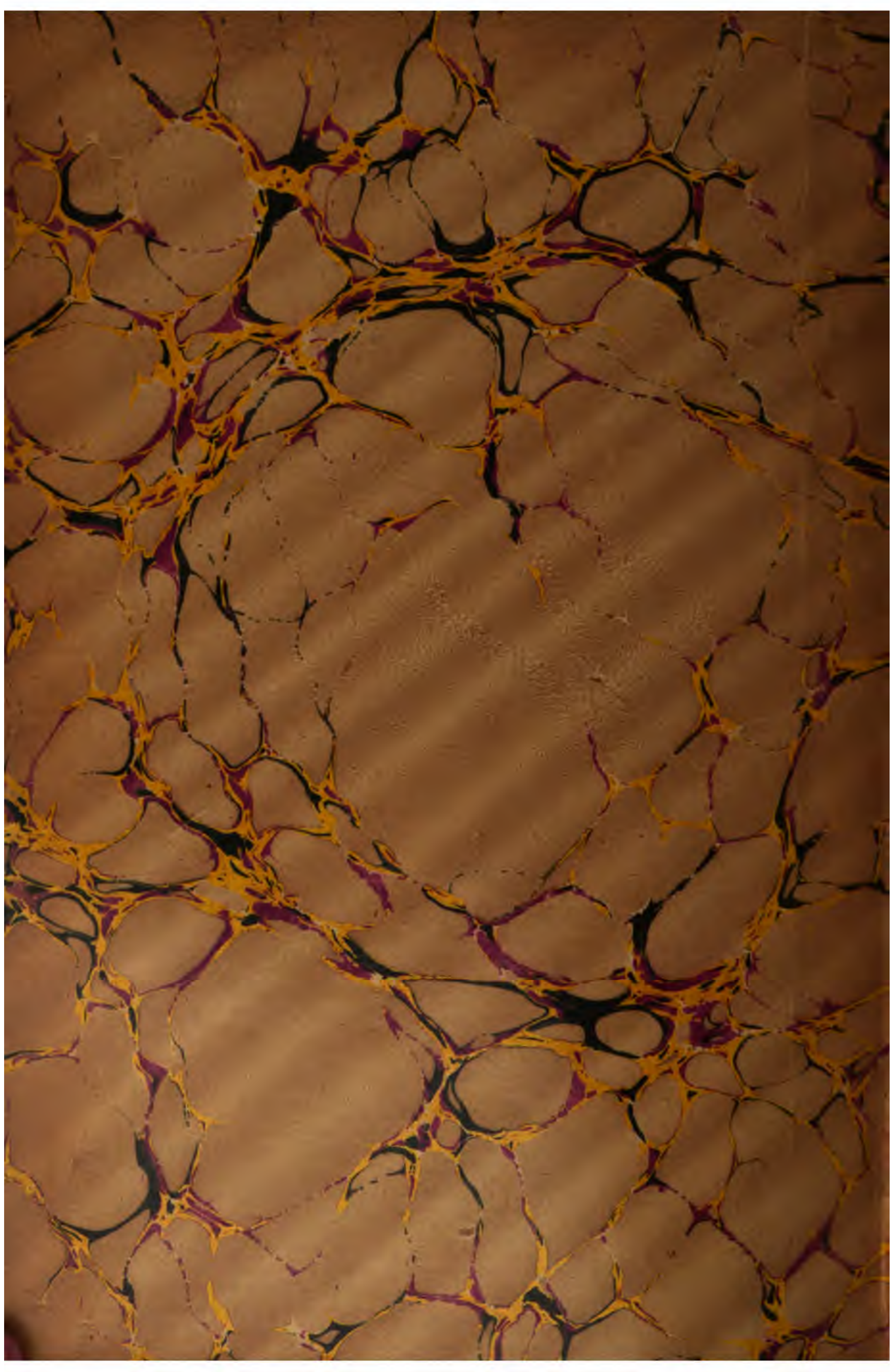


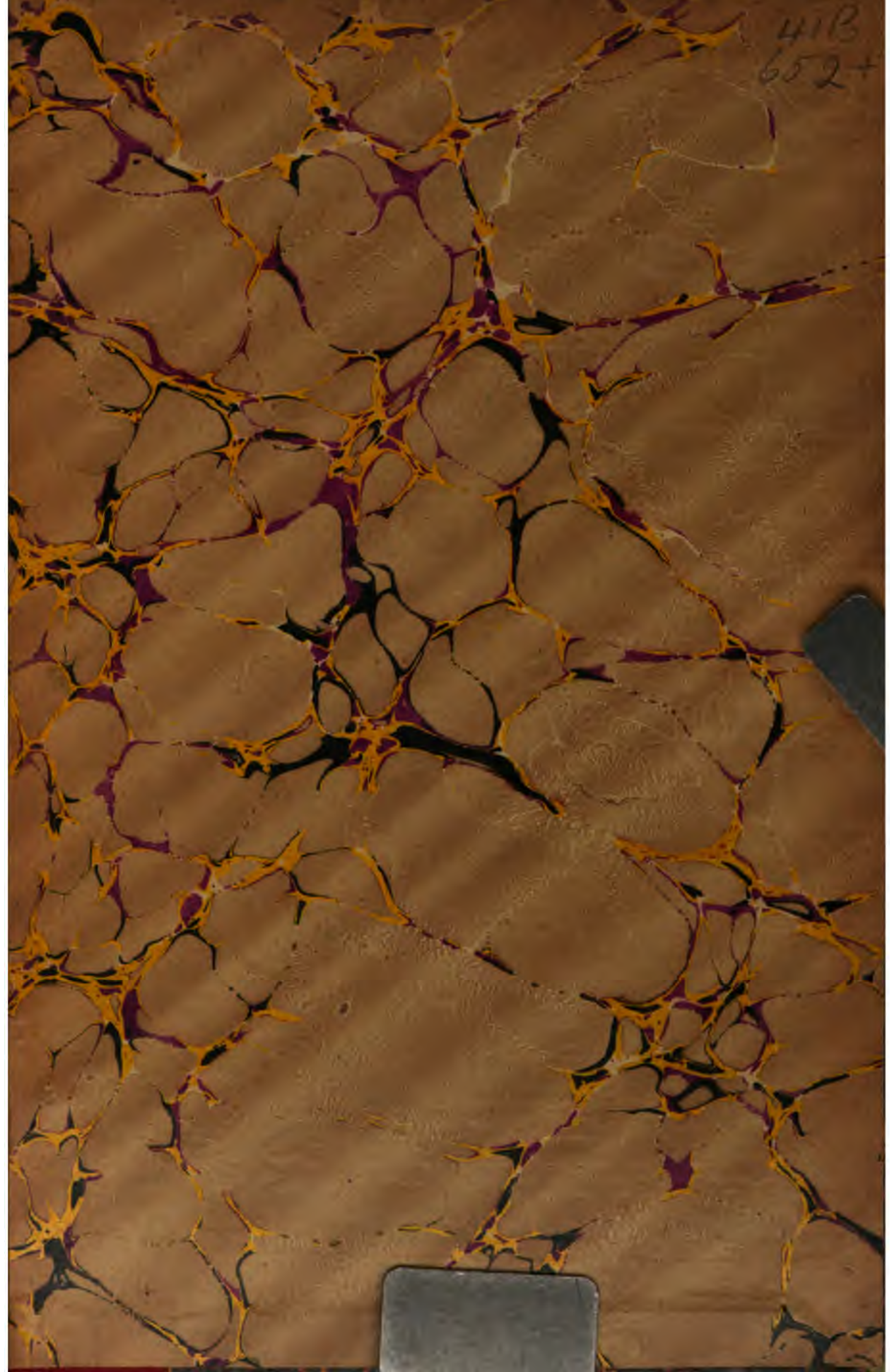
MONUMENT DE PASTEUR A MELUN.

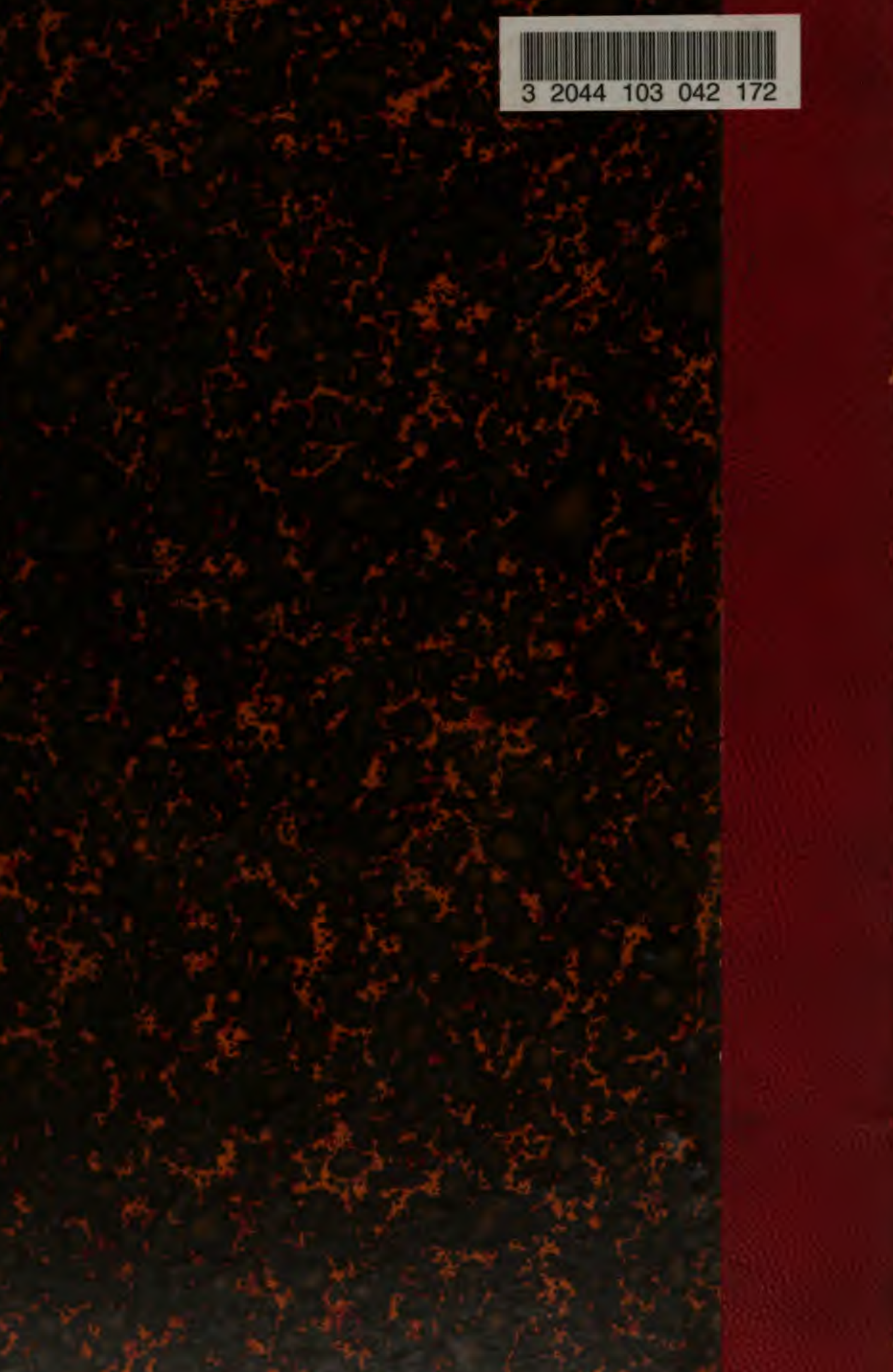


STATUE DE PASTEUR, PAR HUGUES

(Cour d'honneur de la Sorbonne).




41B
652+


3 2044 103 042 172